

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報 (A) 平4-126085

⑫ Int. Cl. 5

C 12 N 15/49
C 07 K 13/00

識別記号

ZNA

府内整理番号

7731-4H
8717-4B

⑬ 公開 平成4年(1992)4月27日

C 12 N 15/00

A※
審査請求 未請求 請求項の数 13 (全34頁)

⑭ 発明の名称 ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに相補性を示すDNA

⑮ 特願 平2-206218

⑯ 出願 平2(1990)8月3日

優先権主張 ⑰ 平2(1990)5月11日 ⑯ 日本 (JP) ⑮ 特願 平2-122163

⑰ 発明者 長谷川 明 埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡1-3-1 東燃株式会社総合研究所内

⑰ 発明者 槙 昇 埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡1-3-1 東燃株式会社総合研究所内

⑰ 発明者 見上彪 千葉県鎌ヶ谷市くぬぎ山5-8-7-506

⑰ 発明者 速水正憲 東京都中野区野方2-37-12

⑯ 出願人 東燃株式会社 東京都千代田区一ツ橋1丁目1番1号

⑯ 代理人 弁理士 川口義雄 外4名

最終頁に続く

明細書の添付(内容に変更なし)

明細書

1. 発明の名称

ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに相補

性を示すDNA

2. 特許請求の範囲

(1) ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに相補性を示すDNAであって、下記の図に示される読み取り枠に従って、gag, pol, vif及びenv領域に対応する下記の図に示されたアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNA。

(以下余白)

明細書の予告(内容に変更なし)

明細書の添書(内容に変更なし)

明細書の序書(内容に変更なし)	567	594
TAG ATA AAG ATT ATC TGG TGA CTC TTC GCG GAT CGT CAA GCC AGG AGA TTC GTC		
621	648	
GGG GGA CAG CCA ACA AGG TAG GAG AGA TTC TAC AGC AAC ATG GGG AAT GGA CAG		
Met Gly Asn Gly Gln		
gag		
675	702	
GGG CGA GAC TGG AAA ATG GCC ATT AAG AGA TGT AGT AAT GTT GCT GTA GGA GTA		
Gly Arg Asp Trp Lys Met Ala Ile Lys Arg Cys Ser Asn Val Ala Val Gly Val		
729	756	
GGG AGT AAG AGT AAA AGA TTC GGA GAA GGA AAC TTT AGA TGG GCC ATA AGG ATG		
Gly Ser Lys Ser Lys Arg Phe Gly Glu Gly Asn Phe Arg Trp Ala Ile Arg Met		
783	810	
GCT AAT GTA ACT ACA GGA CGA GAA CCA GGT GAT ATA CCA GAG ACT TTA GAA CAG		
Ala Asn Val Thr Thr Gly Arg Glu Pro Gly Asp Ile Pro Glu Thr Leu Glu Gln		
837	864	
TTA AGA TCA ATT ATT TGT GAT TTA CAA GAC AGA AGA GAA CAC TAT GGA TCT AGT		
Leu Arg Ser Ile Ile Cys Asp Leu Gln Asp Arg Arg Glu His Tyr Gly Ser Ser		
891	918	
AAG GAA ATT GAT ATG GCA ATT ACC ACT TTA AAA GTT TTT GCA GTG GCA GGA ATT		
Lys Glu Ile Asp Met Ala Ile Thr Thr Leu Lys Val Phe Ala Val Ala Gly Ile		
945	972	
CTA AAT ATG ACT GTA TCT ACT GCC ACA GCA GCT GAA AAT ATG TAT GCT CAG ATG		
Leu Asn Met Thr Val Ser Thr Ala Thr Ala Ala Glu Asn Met Tyr Ala Gln Met		
999	1026	
GGA TTA GAC ACC AGA CCA TCT GTA AAA GAA AGT GGG GGA AAA GAA GAA GGA CCT		
Gly Leu Asp Thr Arg Pro Ser Val Lys Glu Ser Gly Gly Lys Glu Glu Gly Pro		

特開平4-126085(3)

明細書の添付(内容に変更なし)

1053
CCA CAG GCT TAT CCT ATT CAA ACA AAT GGA GCA CCA CAG TAT GTA GCC CTT
Pro Gln Ala Tyr Pro Ile Gln Thr Val Asn Gly Ala Pro Gln Tyr Val Ala Leu

1107
GAT CCA AAA ATG GTG TCC ATT TTT ATG GAG AAG GCA AGA GAG GGG CTA GGA GGT
Asp Pro Lys Met Val Ser Ile Phe Met Glu Lys Ala Arg Glu Gly Leu Gly Gly

1161
GAG GAG GTC CAA CTG TGG TTC ACA GCC TTT TCA GCT AAT TTA ACA TCA ACT GAT
Glu Glu Val Gln Leu Trp Phe Thr Ala Phe Ser Ala Asn Leu Thr Ser Thr Asp

1215
ATG GCT ACA TTA ATT ATG TCC GCA CCT GGC TGT GCA GCA GAT AAA GAA ATC CTA
Met Ala Thr Leu Ile Met Ser Ala Pro Gly Cys Ala Ala Asp Lys Glu Ile Leu

1269
GAT GAA ACA CTG AAA CAG ATG ACA GCT GAG TAT GAT CGT ACC CAT CCT CCT GAT
Asp Glu Thr Leu Lys Gln Met Thr Ala Glu Tyr Asp Arg Thr His Pro Pro Asp

1323
GGG CCT AGA CCG CTG CCC TAT TTC ACT GCC GCA GAG ATT ATG GGG ATA GGA TTA
Gly Pro Arg Pro Leu Pro Tyr Phe Thr Ala Ala Glu Ile Met Gly Ile Leu

1377
ACT CAA GAA CAA CAA GCA GAG CCC AGG TTT GCA CCA GCC AGA ATG CAG TGT AGA
Thr Gin Glu Gln Gln Ala Glu Pro Arg Phe Ala Pro Ala Arg Met Gln Cys Arg

1431
GCA TGG TAC CTT GAA GCA TTA GGA AAG TTG GCG GCC ATA AAA GCC AAA TCT CCC
Ala Trp Tyr Leu Glu Ala Leu Gly Lys Leu Ala Ala Ile Lys Ala Lys Ser Pro

1485
1512
CGA GCA GTA CAA TTG AAG CAG GGA GCT AAA GAG GAC TAT TCC TCA TTT ATA GAT
Arg Ala Val Gln Leu Lys Gln Gly Ala Lys Glu Asp Tyr Ser Ser Phe Ile Asp

1539
1566
AGA CTA TTT GCT CAA ATA GAT CAA GAG CAG AAC ACA GCT GAA GTA AAG CTG TAT
Arg Leu Phe Ala Gln Ile Asp Gln Glu Gln Asn Thr Ala Glu Val Lys Leu Tyr

1593
1620
TTA AAA CAA TCT TTA AGT ATA GCC AAT GCT AAT CCA GAT TGT AAA AGA GCA ATG
Leu Lys Gln Ser Leu Ser Ile Ala Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Arg Ala Met

1647
1674
AGT CAT CTT AAA CCA GAA AGT ACT TTA GAG GAA AAA CTG AGG GCC TGC CAA GAA
Ser His Leu Lys Pro Glu Ser Thr Leu Glu Glu Lys Leu Arg Ala Cys Gln Glu

1701
1728
GTA GGA TCA CCA GGA TAT AAA ATG CAA TTG CTG GCG GAA GCT CTC ACA AGG GTT
Val Gly Ser Pro Gly Tyr Lys Met Gln Leu Leu Ala Glu Ala Leu Thr Arg Val

1755
1782
CAA ACA GTT CAA ACA AAA GGA CCA AGG CTA GTG TGT TTC AAT TGT AAA AAA CCA
Gln Thr Val Gln Thr Lys Gly Pro Arg Leu Val Cys Phe Asn Cys Lys Pro

1809
1836
GGC CAC CTG GCT AGA CAA TGT AAA GAA GCG AAG AGA TGT AAT AAC TGT GGA AAA
Gly His Leu Ala Arg Gln Cys Lys Glu Ala Lys Arg Cys Asn Asn Cys Gly Lys

1863
1890
CCT GGT CAC TTA GCT GCT AAT TGC TGG CAA GGA GGT AGG AAA ACC TCG GGA AAC

特開平4-126085(4)

明細書の添付(内容に変更なし)

Pro Gly His Leu Ala Ala Asn Cys Trp Gln Gly Gly Arg Lys Thr Ser Gly Asn
Glu Asn Leu Gly Lys Arg
pol

1917 1944
GAG AAG GTG GGG CGA GCT GCA GCC CCA GTA AAC CAA GTG CAG CAA ATA GTA CCA
Glu Lys Val Gly Arg Ala Ala Ala Pro Val Asn Gln Val Gln Gln Ile Val Pro
Glu Gly Gly Ala Ser Cys Ser Pro Ser Lys Pro Ser Ala Ala Asn Ser Thr Ile

1971 1998
TCT GCA CCT CCA ATG GAG GAG AAA CTA TTA GAT TTA TAA ACT ATA ATA CAA TAG
Ser Ala Pro Pro Met Glu Glu Lys Leu Leu Asp Leu
Cys Thr Ser Asn Gly Gly Glu Thr Ile Arg Phe Ile Asn Tyr Asn Thr Ile Gly

2025 2052
GTA CTA CCA CAA CTT TGG AAA GAA GAC CTG AAA TAC AAA TTT TTG TAA ATG GAC
Thr Thr Thr Leu Glu Arg Arg Pro Glu Ile Gln Ile Phe Val Asn Gly His

2079 2106
ACC CTA TAA AAT TTT TAT TAG ATA CAG GAG CAG ATA TAA CAA TTT TAA ATA GAA
Pro Ile Lys Phe Leu Leu Asp Thr Gly Ala Asp Ile Thr Ile Leu Asn Arg Lys

2133 2160
AAG ATT TTC AAA TAG GAA ATT CTA TAG AAA ATG GGA AAC AGA ATA TGA TTG GAG
Asp Phe Gln Ile Gly Asn Ser Ile Glu Asn Gly Lys Gln Asn Met Ile Gly Val

2187 2214
TAG GAG GAG GAA AAA GAG GAA CTA ATT ATA TCA ATG TAC ATC TAG AAA TTA GAG
Gly Gly Gly Lys Arg Gly Thr Asn Tyr Ile Asn Val His Leu Glu Ile Arg Asp

明細書の添付(内容に変更なし) 2241 2268
ATG AAA ATT ATA GGA TGC ATT GTA TAT TTG GAA ATG TGT GTG TTC TAG AAG ATA
Glu Asn Tyr Arg Met Gin Cys Ile Phe Gly Asn Val Cys Val Leu Glu Asp Asn

2295 2322
ATT CCT TAA TCC AAC CAT TAT TAG GAA GAG ATA ACA TGA TTA AGT TTA ATA TAA
Ser Leu Ile Gln Pro Leu Leu Gly Arg Asp Asn Met Ile Lys Phe Asn Ile Arg

2349 2376
GAT TGG TAA TGG CTC AAA TTT CAG AAA AGA TTC CAA TAG TAA AAG TGA GGA TGA
Leu Val Met Ala Gln Ile Ser Glu Ile Pro Ile Val Lys Val Arg Met Lys

2403 2430
AGG ACC CTA CTC AAG GGC CTC AGG TAA AAC AGT GGC CAT TAT CAA ATG AAA AAA
Asp Pro Thr Gin Gly Pro Gin Val Lys Gln Trp Pro Leu Ser Asn Glu Lys Ile

2457 2484
TTG AAG CTT TAA CAG ACA TAG TAG AAA GAT TAG AAT CAG AAG GAA AAG TGA AAA
Glu Ala Leu Thr Asp Ile Val Glu Arg Leu Ser Glu Gly Lys Val Lys Arg

2511 2538
GGG CTG ACC CGA ATA ATC CTT GGA ATA CCC CAG TAT TTG CTA TTA AGA AGA AGA
Ala Asp Pro Asn Asn Pro Trp Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Ser

2565 2592
GTG GTA AAT GGA GGA TGC TCA TAG ATT TTA GGG TCC TAA ATA AAT TAA CAG ACA
Gly Lys Trp Arg Met Leu Ile Asp Phe Arg Val Leu Asn Lys Leu Thr Asp Lys
2619 2646
AAG GAG CAG AAG TCC AGT TAG GAC TTC CTC ATC CTG CTG GAT TAC AAA TGA AAA
Gly Ala Glu Val Gin Leu Gly Leu Pro His Pro Ala Gly Leu Gin Met Lys Lys

2673 2700
AAC AAG TAA CGG TGT TGG ATA TAG GGG ATG CAT ATT TTA CCA TTC CTC TAG ATC

特開平4-126085(5)

明細書の添付(内容に変更なし)

Gln Val Thr Val Leu Asp Ile Gly Asp Ala Tyr Phe Thr Ile Pro Leu Asp Pro
 2727 2754
 CAG ATT ATG CTC CTT ATA CTG CAT TTA CAT TAC CTA GCA AAA ATA ATG CAG GGC
 Asp Tyr Ala Pro Tyr Thr Ala Phe Thr Leu Pro Arg Lys Asn Asn Ala Gly Pro
 2781 2808
 CAG GGA GGA GAT ATG TAT GGT GCA GTT TAC CAC AGG GGT GGG TTT TAA GTC CAT
 Gly Arg Arg Tyr Val Trp Cys Ser Leu Pro Gln Gly Trp Val Leu Ser Pro Leu
 2835 2862
 TAA TAT ATC AGA GTA CCT TAA ACA ATA TAT TAC AGC CAT TTA TCA AAC AAA ATT
 Ile Tyr Gln Ser Thr Leu Asn Asn Ile Leu Gln Pro Phe Ile Lys Gln Asn Ser
 2889 2916
 CTG AGT TAG ATA TTT ACC AAT ATA TGG ATG ATA TAT ATA TAG GAT CAA ATT TAA
 Glu Leu Asp Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Ile Tyr Ile Gly Ser Asn Leu Asn
 2943 2970
 ATA AAA AAG AAC ATA AAC AAA AAG TAG AAG AAT TAA GAA AAT TGT TAT TAT GGT
 Lys Lys Glu His Lys Gln Lys Val Glu Glu Leu Arg Lys Leu Leu Trp Trp
 2997 3024
 GGG GAT TTG AAA CCC CGG AAG ACA AAT TAC AAG AAG AGC CCC CAT ATA AGT GGA
 Gly Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Gln Glu Glu Pro Pro Tyr Lys Trp Met
 3051 3078
 TGG GCT ATG AAT TAC ATC CAT TAA CAT GGT CAA TAC AGC AAA AAC AAT TAG AAA
 Gly Tyr Glu Leu His Pro Leu Thr Trp Ser Ile Gln Gln Lys Glu Leu Ile
 3105 3132
 TTC CAG AAA GAC CCA CAT TAA ATG AAC TAC AGA AAT TAG CAG GTA AAA TAA ACT
 Pro Glu Arg Pro Thr Leu Asn Glu Leu Gln Lys Leu Ala Gly Lys Ile Asn Trp

明細書の添付(内容に変更なし)

3159 3186
 GGG CCA GTC AGA CTA TCC CAG ACT TAA GTA TAA AAG AAC TAA CTA ACA TGA TGA
 Ala Ser Gln Thr Ile Pro Asp Leu Ser Ile Lys Glu Leu Thr Asn Met Met Arg
 3213 3240
 GAG GAG ATC AGA AAT TAG ACT CAA TAA GAG AAT GGA CTG TAG AAG CCA AGA GAG
 Gly Asp Gln Lys Leu Asp Ser Ile Arg Glu Trp Thr Val Glu Ala Lys Arg Glu
 3267 3294
 AAG TAC AAA AAG CTA AGG AGG CTA TTG AGA CGC AAG CAC AGC TAA ATT ATT ATG
 Val Gln Lys Ala Lys Glu Ala Ile Glu Thr Gln Ala Gln Leu Asn Tyr Tyr Asp
 3321 3348
 ATC CCA ATC GAG GAT TAT ATG CAA AAT TGA GTT TAG TGG GAC CAC ATC AAA TAT
 Pro Asn Arg Gly Leu Tyr Ala Lys Leu Ser Leu Val Gly Pro His Gln Ile Cys
 3375 3402
 GTT ATC AAG TGT ATC AAA AGA ACC CAG AAC ACA TTT TAT GGT ATG GTA AGA TAA
 Tyr Gln Val Tyr Gln Lys Asn Pro Glu His Ile Leu Trp Tyr Gly Lys Ile Asn
 3429 3456
 ATA GAC AAA AGA AAA AAG CAG AAA ATA CCT GTG ATA TAG CTC TAA GGG CAT GTT
 Arg Gln Lys Lys Lys Ala Glu Asn Thr Cys Asp Ile Ala Leu Arg Ala Cys Tyr
 3483 3510
 ATA AAA TAA GAG AAG AGT CTA TTA TAA GAA TAG GAA AAG AAC CAG TAT ATG AAA
 Lys Ile Arg Glu Glu Ser Ile Ile Arg Ile Gly Lys Glu Pro Val Tyr Glu Ile
 3537 3564
 TAC CTG CAT CCA GAG AGG CCT GGG AAT CAA ATC TAA TTA GAT CTC CAT ACC TTA
 Pro Ala Ser Arg Glu Ala Trp Glu Ser Asn Leu Ile Arg Ser Pro Tyr Leu Lys

明細書の添言(内容に変更なし)

3591 3618
 AGG CCC CAC CAC CTG AGG TAG AAT TTA TAC ATG CAG CCT TAA GTA TAA AAA GGG
 Ala Pro Pro Pro Glu Val Glu Phe Ile His Ala Ala Leu Ser Ile Lys Arg Ala

 3645 3672
 CTC TAA GCA TGA TAC AAG ATG CCC CTA TAA TAG GAG CAG AAA CAT GGT ATA TAG
 Leu Ser Met Ile Gln Asp Ala Pro Ile Ile Gly Ala Glu Thr Trp Tyr Ile Asp

 3699 3726
 ATG GGA GTA GAA AAC AAG GAA AAG CAG CAA GAG CAG CCT ATT GGA CAA ATA CAG
 Gly Ser Arg Lys Gln Gly Lys Ala Ala Arg Ala Ala Tyr Trp Thr Asn Thr Gly

 3753 3780
 GCA AAT GGC AGA TAA TGG AGA TAG AAG GAA GTA ATC AAA AAG CAG AGG TAC AGG
 Lys Trp Gln Ile Met Glu Ile Glu Gly Ser Asn Gln Lys Ala Glu Val Gln Ala

 3807 3834
 CTT TAT TAT TGG CCT TAA AAG CAG GAT CAG AAG AAA TGA ATA TCA TAA CAG ATT
 Leu Leu Leu Ala Leu Lys Ala Gly Ser Glu Glu Met Asn Ile Ile Thr Asp Ser

 3861 3888
 CAC AAT ATA TTT TGA ATA TTC TCA ACC AAC AAC CAG ATT TGA TGG AAG GAC TAT
 Gln Tyr Ile Leu Asn Ile Leu Asn Gln Gln Pro Asp Leu Met Glu Gly Leu Trp

 3915 3942
 GGC AAG AGG TCT TAG AAC AAA TGG AAA AGA AAA TAG CAA TTT TTA TAG ACT GGG
 Gln Glu Val Leu Glu Gln Met Glu Lys Lys Ile Ala Ile Phe Ile Asp Trp Val

 3969 3966
 TTC CTG GGC ATA AAG GTA TAC CAG GAA ATG AAG AAG TAG ATA AAC TTT GCC AAA
 Pro Gly His Lys Gly Ile Pro Gly Asn Glu Glu Val Asp Lys Leu Cys Gln Thr

明細書の請求(内容に変更なし)

4023	4050
CAA TGA TGA TTA TAG AAG GTG AGG GGA TAT TAG AGA AAA GAT CAG AAG ATG CAG Met Met Ile Ile Glu Gly Ile Leu Glu Lys Arg Ser Glu Asp Ala Gly	
4077	
GAT ATG ACT TAT TAG CTG CAG CAC AAG AAA CAC ATT TCT TGC CTG GAG AGG TAA Tyr Asp Leu Leu Ala Ala Gln Glu Thr His Phe Leu Pro Gly Glu Val Arg	4104
4131	
GAA TAG TAC CAA CAA AAA CAA GAA TAA TGC TAC CAA AAG GAC ACT GGG GAC TAA Ile Val Pro Thr Lys Thr Arg Ile Met Leu Pro Lys Gly His Trp Gly Leu Ile	4158
4185	
TAA TGG GAA AAA GCT CAA TAG GAA GTA AAG GGG TGG ATG TAT TAG GAG GAG TTA Met Gly Lys Ser Ser Ile Gly Ser Lys Gly Val Asp Val Leu Gly Gly Val Ile	4212
4239	
TAG ATG AAG GAT ATA GAG GAG AAT TAG GAG TGA TTA TGA TTA ATT TAA CAA AAA Asp Glu Gly Tyr Arg Gly Val Ile Met Ile Asn Leu Thr Lys Lys	4266
4293	
AAT CAA TAA CTA TAT TAG AAA AGC AAA AAA TAG CAC AAT TGA TAA TAT TGC CTT Ser Ile Thr Ile Leu Glu Lys Gln Lys Ile Ala Gln Leu Ile Ile Leu Pro Cys	4320
4347	
GTA GAC ACG AAG GCC TAC AAC AAG GAG AAA TAC AAA TGA ATT CAG AAA GAG GAG Arg His Glu Gly Leu Gln Gln Gly Glu Ile Gln Met Asn Ser Glu Arg Gly Glu	4374
4401	
AAA AAG GAT TCG GAT CAG CAG GAG TTT CAT CAT GGG TAG ATA GAA TTG AAG Lys Gly Phe Gly Ser Ala Gly Val Phe Ser Ser Trp Val Asp Arg Ile Glu Glu	4428

特開平4-126085 (7)

明細書の序文(内容に変更なし)

4455	4482	
AAG CAG AGT TGA ATC ATG AAA AAT TTC ATT CAG ACC CAC AAT ATT TAA GGA CGG Ala Glu Leu Asn His Glu Lys Phe His Ser Asp Pro Gin Tyr Leu Arg Thr Glu		
4509		4536
AGT TCA ATC TAC CTA GAA TAG TAG CAG AAG AAA TAA AAA GAA AAT GTC CCC TGT Phe Asn Leu Pro Arg Ile Val Ala Glu Glu Ile Lys Arg Lys Cys Pro Leu Cys		
4563		4590
GCA GAA TTA GAG GCG AAC AAG TAG GGG GAC AAT TAA AGA TTC GGC CTG GAA TAT Arg Ile Arg Gly Glu Gln Val Gly Gly Gln Leu Lys Ile Arg Pro Gly Ile Trp		
4617		4644
GGC AAA TGG ATT GCA CAC ATT TTA ATG GTA AAA TAA TCA TTG TAG CAG TGC ATG Gln Met Asp Cys Thr His Phe Asn Gly Ile Ile Val Ala Val His Val		
4671		4698
TGG AAT CAG GAT TTT TAT GGG CAC AGA TAA TTC CAC AGG AGA CTG CAG ATT GTA Glu Ser Gly Phe Leu Trp Ala Gln Ile Ile Pro Gln Glu Thr Ala Asp Cys Thr		
4725		4752
CAG TCA AAG CTC TTT TAC AAC TTA TAT GTG CTC ATA ATG TTA CAG AAT TAC AAA Val Lys Ala Leu Leu Gln Leu Ile Cys Ala His Asn Val Thr Glu Leu Gln Thr		
4779		4806
CAG ATA ATG GAC CAA ATT TTA AAA ATC AGA AAA TGG AAG GAT TAT TAA ATT ATA Asp Asn Gly Pro Asn Phe Lys Asn Gln Lys Met Glu Gly Leu Leu Asn Tyr Met		
4833		4860
TGG GAA TAA AAC ATA AAT TGG GTA TAC CAG GTA ACC CAC AAT CAC AAG CAT TGG Gly Ile Lys His Lys Leu Gly Ile Pro Gln Asn Pro Ser Gln Ala Leu Val		

明細書の序文(内容に変更なし)

4887		4914
TGG AAA ATG CTA ATA ACA CAT TGA AAG TTT GGA TTC AGA AAT TTC TAC CAG AGA Glu Asn Ala Asn Asn Thr Leu Lys Val Trp Ile Gln Lys Phe Leu Pro Glu Thr		
4941		4968
CTA CTT CTC TGG ATA ATG CTT TGG CCC TAG CCC TGC ATT GTC TCA ATT TTA AAC Thr Ser Leu Asp Asn Ala Leu Ala Leu His Cys Leu Asn Phe Lys Gln		
4995		5022
AAA GGG GTA GAC TAG GGA GGA TGG CCC CTT ATG AAT TAT ACA TAC AAC AAG AAT Arg Gly Arg Leu Gly Arg Met Ala Pro Tyr Glu Leu Tyr Ile Gln Gln Glu Ser		

5049		5076
CAT TAA GAA TAC AAG ACT ATT TTT CCG CGA TTC CAC AAA AGT TAA TGA TGC AAT Leu Arg Ile Gln Asp Tyr Phe Ser Ala Ile Pro Gln Lys Leu Met Met Gln Trp		
5103		5130
GGT TGT ATT ACA AAG ATC AAA AAG ATA AAA AAT GGA AGG GAC CAA TGA GAG TGG Leu Tyr Tyr Lys Asp Gln Lys Asp Lys Lys Trp Lys Gly Pro Met Arg Val Glu		
5157		5184
AAT ATT GGG GAC AAG GAT CAG TAT TAT TAA AGG ATG AAG AGA AGG GAA TAT TTC Tyr Trp Gly Gin Gly Ser Val Leu Leu Lys Asp Glu Glu Lys Gly Ile Phe Leu		
5211		5238
TTG TAC CTA GGA GAC ACA TAA GAA GAG TCC CAG AAC CCT GCA CTC TTC CTG AAG Val Pro Arg Arg His Ile Arg Arg Val Pro Glu Pro Cys Thr Leu Pro Glu Gly		
5265		5292
GGG ATG AGT GAC GAA GAT TGG CAG GTA AGT AGA AGA CTC TTT GCA GTT CTC CAA		

特開平4-126085 (8)

明細書の序文(内容に変更なし)

```

Met Ser Asp Glu Asp Trp Gln Val Ser Arg Arg Leu Phe Ala Val Leu Gln
Asp Glu
  vif
      5319          5346
GGA GGA GTA TAC AGT GCC ATG TTG TAC ATA TCG AGT CTA CCT GAA ATG GAA CAG
Gly Gly Val Tyr Ser Ala MET Leu Tyr Ile Ser Ser Leu Pro Glu Met Glu Gln

      5373          5400
GAT AAA TGT AAA AGG AGC TTT AAG AAA AGG CTT TCG GAA AAG GAA ACA GGA TTC
Asp Lys Cys Lys Arg Ser Phe Lys Arg Leu Ser Glu Lys Glu Thr Gly Phe

      5427          5454
ATA TTT AGA TTA AGA AAA GCT GAA GGA ATA AGG TGG AGC TTC CAT ACC AGA GAT
Ile Phe Arg Leu Arg Lys Ala Glu Gly Ile Arg Trp Ser Phe His Thr Arg Asp

      5481          5508
TAT TAT ATA GGA TAT GTA AGA GAG ATG GTG GCC GGA TCT AGC CTA CCA GAT AGT
Tyr Tyr Ile Gly Tyr Val Arg Glu Met Val Ala Gly Ser Ser Leu Pro Asp Ser

      5535          5562
TTA AGA TTG TAT GTT TAT ATA AGC AAT CCA TTG TGG CAT CAA TCA TAC CGT CCT
Leu Arg Leu Tyr Val Tyr Ile Ser Asn Pro Leu Trp His Gln Ser Tyr Arg Pro

      5589          5616
GGC CTG ACA AAT TTT AAT ACA GAA TGG CCT TTT GTC AAT ATG TGG ATA AAG ACA
Gly Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Trp Pro Phe Val Asn Met Trp Ile Lys Thr

      5643          5670
GGA TTT ATG TGG GAT GAT ATT GAA AGC CAG AAT ATT TGC AAA GGA GGA GAG ATT
Gly Phe Met Trp Asp Asp Ile Glu Ser Gln Asn Ile Cys Lys Gly Glu Ile

```

明細書の序文(内容に変更なし)

```

      5697          5724
TCA CAT GGA TGG GGA CCT GGA ATG GTG GGA ATT GTG ATA AAA GCA TTT AGT TGT
Ser His Gly Trp Gly Pro Gly Met Val Ile Val Ile Lys Ala Phe Ser Cys

      5751          5778
GGA GAA AGG AAG ATA AAA ATT ACT CCT GTT ATG ATT ATA AGA GGT GAA ATA GAC
Gly Glu Arg Lys Ile Lys Ile Thr Pro Val Met Ile Ile Arg Gly Glu Ile Asp

      5805          5832
CCC ACA GAA TGG TGT GGA GAT TGT TGG ATT TTG ATG TGT CTT AAA TAT TCA CCT
Pro Thr Glu Trp Cys Gly Asp Cys Trp Asn Leu Met Cys Leu Lys Tyr Ser Pro

      5859          5886
CCA AAT ACA TTG CAG AGG CTT GCT ATG CTG GCG TGT GGC AAA GAG GCT AAA GAA
Pro Asn Thr Leu Gln Arg Leu Ala Met Leu Ala Cys Gly Lys Glu Ala Lys Glu

      5913          5940
TGG AGA GGC TGT TGT ATT CAG CGT TTT GTT TCT CCT TTC AGA ACA CCA TGT GAT
Trp Arg Gly Cys Cys Asn Gln Arg Phe Val Ser Pro Phe Arg Thr Pro Cys Asp

      5967          5994
CTA GAG GTC GTC CAG AAC AAG CCT AAA AGG AAT TTA TTG TGG ACG GGA GAA TTA
Leu Glu Val Val Gln Asn Lys Pro Lys Arg Asn Leu Leu Trp Thr Gly Glu Leu

      6021          6048
TGA ATG GAA GAA ATA ATC CCA CTG TTT AAT AAG GTT ACA GAA AAG TTA GAT AGA
Met Glu Glu Ile Ile Pro Leu Phe Asn Lys Val Thr Glu Lys Leu Asp Arg

      6075          6102
GAA CCA GCT ATT AGA TTA TTT ATC TTG GCT TAT CAG GTC GAC AGA TAC AGA TTT
Glu Pro Ala Ile Arg Leu Phe Ile Leu Ala Tyr Gln Val Asp Arg Tyr Arg Phe

      6129          6156

```

特開平4-126085 (9)

明細書の添付(内容に変更なし)

ATT AGA ATT TTA CAA TTA TTA CTT TGG AGA GAT AGA TTT AAG TCA ATT AAT TCT
 Ile Arg Ile Leu Gln Leu Leu Leu Trp Arg Asp Arg Phe Lys Ser Ile Asn Ser
 6183 6210
 AAA TAT TGT TTA TGC TGG CTG TGC TGC AAG TCT GCT TAT TGG CGC TTG CAA TCT
 Lys Tyr Cys Leu Cys Trp Leu Cys Cys Lys Ser Ala Tyr Trp Arg Leu Gln Ser
 Met Leu Ala Val Leu Gln Val Cys Leu Leu Ala Leu Ala Ile Tyr
 6237 6264
 ACA TTA TCC ATA AAT ACT GCC TAG AAA TAT TTC TTT TAA TAT TTC ATC TGC AGA
 Thr Leu Ser Ile Asn Thr Ala
 Ile Ile His Lys Tyr Cys Leu Glu Ile Phe Leu Leu Ile Phe His Leu Gln Ile
 6291 6318
 TAT AAA CAT GGC AGA GGG GGG ATT TAC TCA TAA TCA ACA ATG GAT AGG ACC AGA
 Met Ala Glu Gly Phe Thr His Asn Gln Gln Trp Ile Gly Pro Glu
 env
 6345 6372
 GGA AGC TGA AGA ATT GTT GGA TTT TGA TAT AGC TGT ACA AAT GAA TGA AGA AGG
 Glu Ala Glu Glu Leu Leu Asp Phe Asp Ile Ala Val Gln Met Asn Glu Glu Gly
 6399 6426
 TCC ATT AAA CCC AGG AGT AAA CCC ATT TAG GGT ACC AGG CAT TAC TTC ACA AGA
 Pro Leu Asn Pro Gly Val Asn Pro Phe Arg Val Pro Gly Ile Thr Ser Gln Glu
 6453 6480
 AAA GGA TGA TTA TTG TAA GAT CTT ACA AAC AAA ACT ACA AGA ATT AAA GAA TGA
 Lys Asp Asp Tyr Cys Lys Ile Leu Gln Thr Lys Leu Gln Glu Leu Lys Asn Glu
 6507 6534
 AGT CAA AGA GGT AAA AAT TGA AGA AGG AAA TGC AGG TAA GTT TAG AAG GGC AAG
 Val Lys Glu Val Lys Ile Glu Glu Gly Asn Ala Glu Lys Phe Arg Arg Ala Arg

明細書の添付(内容に変更なし)

6561 6588
 ATA TTT AAG ATA TTC TGA TGA AAA TGT GCT ATC CAT AGT CTA TTT GCT AAT AGG
 Tyr Leu Arg Tyr Ser Asp Glu Asn Val Leu Ser Ile Val Tyr Leu Ile Gly
 6615 6642
 ATA TCT AAG ATA TTT AAT AGA TCA TAG GAG TTT AGG ATC TTT GAG ACA TGA TAT
 Tyr Leu Arg Tyr Leu Ile Asp His Arg Ser Leu Gly Ser Leu Arg His Asp Ile
 6669 6696
 AGA CAT AGA AAC ACC TCA AGA GGA ACA TTA CAA TAA TAG TGA AAA GGG TAC CAC
 Asp Ile Glu Thr Pro Gln Glu His Tyr Asn Asn Ser Glu Lys Gly Thr Thr
 6723 6750
 ATT AAA TAT AAA ATA TGG GAG AAG ATG TTG TAT TAG CAC ATT TAT TAT GTA TTT
 Leu Asn Ile Lys Tyr Gly Arg Arg Cys Cys Ile Ser Thr Phe Ile Met Tyr Leu
 6777 6804
 AAT CCT TTT TGC AGG AGT AGG CAT CTG GCT CGG AGC TAG GGC GCA AGT AGT GTG
 Ile Leu Phe Ala Gly Val Gly Ile Trp Leu Gly Ala Arg Ala Gln Val Val Trp
 6831 6858
 GAG ACT TCC CCC TTT AGT AGT TCC AGT AGA TGA TAC AGA AAT AAT ATT TTG GGA
 Arg Leu Pro Pro Leu Val Val Pro Asp Asp Thr Glu Ile Ile Phe Trp Asp
 6885 6912
 TTG TTG GGC ACC AGA GGA ACC GGC TTG TCA AGA TTT CTT GGG AAC AAT GAT ATA
 Cys Trp Ala Pro Glu Glu Pro Ala Cys Gln Asp Phe Leu Gly Thr Met Ile Tyr
 6939 6966
 TCT AAA AGC AAA TGT CAA TAT AAG TAT ACA AGA AGG ACC TAC ATT GGG AAA TTG
 Leu Lys Ala Asn Val Asn Ile Ser Ile Gln Glu Gly Pro Thr Leu Gly Asn Trp

特開平4-126085 (10)

明細書の内容(内容に変更なし)

6993	7020
GGC AAG AGA AAT TTG GTC CAC ATT ATT TAA AAA GGC TAC AAG GCA ATG TAG AAG Ala Arg Glu Ile Trp Ser Thr Leu Phe Lys Lys Ala Thr Arg Gln Cys Arg Arg	
7047	7074
GGG AAG AAT CTG GAG GAG ATG GAA TGA GAC TAT AAC AGG ACC ATT AGG ATG TGC Gly Arg Ile Trp Arg Arg Trp Asn Glu Thr Ile Thr Gly Pro Leu Gly Cys Ala	
7101	7128
AAA CAA CAC CTG TTA TAA TAT CTC GGT AGT GGT ACC TGA TTA TCA ATG TTA TGT Asn Asn Thr Cys Tyr Asn Ile Ser Val Val Val Pro Asp Tyr Gln Cys Tyr Val	
7155	7182
AGA CAG AGT AGA TAC ATG GTT GCA AGG GAA AGT TAA TAT TTC ACT ATG TTT GAC Asp Arg Val Asp Thr Trp Leu Gln Gly Lys Val Asn Ile Ser Leu Cys Leu Thr	
7209	7236
AGG AGG AAA GAT GCT ATA TAA TAA AGA AAC AAG ACA ATT AAG TTA TTG TAC AGA Gly Gly Lys Met Leu Tyr Asn Lys Glu Thr Arg Gln Leu Ser Tyr Cys Thr Asp	
7263	7290
TCC ACT GCA AAT TCC ATT GAT TAA TTA TAC ATT TGG GCC TAA TCA AAC TTG TAT Pro Leu Gln Ile Pro Leu Ile Asn Tyr Thr Phe Gly Pro Asn Gln Thr Cys Met	
7317	7344
GTG GAA CAC ATC TTT GAT CAA AGA TTC TGA GAT ACC AAA ATG TGG ATG GTG GAA Trp Asn Thr Ser Leu Ile Lys Asp Ser Glu Ile Pro Lys Cys Gly Trp Trp Asn	
7371	7398
CCA AGT AGC TTA TTA CGA TAC TTG TAA ATG GGA AGA AGC TAA TGT GAC ATT TCA Gln Val Ala Tyr Tyr Asp Thr Cys Lys Trp Glu Ala Asn Val Thr Phe Gln	

明細書の内容(内容に変更なし)

7425	7452
GTG TCA CAG AAC ACA AAG TCA ATC AGG ATC ATG GAT TAG AAC AAT CTC CTC ATG Cys His Arg Thr Gln Ser Gln Ser Gly Ser Trp Ile Arg Thr Ile Ser Ser Trp	
7479	7506
GAA ACA AAG AAA TAG ATG GGA ATG GAG GCC AGA CTT TGA AAG TGA GAA AGT AAA Lys Gln Arg Asn Arg Trp Glu Trp Arg Pro Asp Phe Glu Ser Glu Lys Val Lys	
7533	7560
AAT ATC ATT ACA ATG TAA TAG TAC AAA AAA CTT AAC GTT TGC AAT GAG AAG TTC Ile Ser Leu Gln Cys Asn Ser Thr Lys Asn Leu Thr Phe Ala Met Arg Ser Ser	
7587	7614
AAG TGA TTA TTA TGA TGT ACA AGG AGC ATG GAT AGA ATT TGG ATG TCA TAG GAA Ser Asp Tyr Tyr Asp Val Gln Gly Ala Trp Ile Glu Phe Gly Cys His Arg Asn	
7641	7668
TAA ATC AAA AAG GCA CTC CGA GGC AAG ATT TAG AAT AAG ATG TAA ATG GAA TGA Lys Ser Lys Arg His Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Arg Cys Lys Trp Asn Glu	
7695	7722
AGG AAA TAA TAT CTC ACT TAT TGA TAC GTG TGG GAC AAA TCC AAA TGT CAC AGG Gly Asn Asn Ile Ser Leu Ile Asp Thr Cys Gly Thr Asn Pro Asn Val Thr Gly	
7749	7776
AGC CAA CCC GGT AGA TTG TAC TAT GAA GGA AAA CAC TAT GTC CAA TTG CTC TTT Ala Asn Pro Val Asp Cys Thr MET Lys Ala Asn Thr MET Tyr Asn Cys Ser Leu	
7803	7830
ACA AGA TAG TTT TAC TAT GAA AAT AGA GGA TCT TAT TGT ACA TTT TAA TAT GAC Gln Asp Ser Phe Thr Met Lys Ile Glu Asp Leu Ile Val His Phe Asn Met Thr	

特開平4-126085 (11)

明細書の序文(内容に変更なし)

7857	7884
AAA AGC TGT GGA ATT GTA TAA TAT TGC TGG AAA TTG GTC TTG CAC ATC GGA TTT Lys Ala Val Glu Leu Tyr Asn Ile Ala Gly Asn Trp Ser Cys Thr Ser Asp Leu	
7911	7938
ACC AAA AGG ATG GGG ATA TAT GAA CTG TAA TTG TAC AAA TGG GAC TGA TAA TAG Pro Lys Gly Trp Gly Tyr Met Asn Cys Asn Cys Thr Asn Gly Thr Asp Asn Ser	
7965	7992
TGA AAC AAA AAT GGC ATG CCC TAA GAA CCA GGG TAT TTT AAG AAA TTG GTA CAA Glu Thr Lys Met Ala Cys Pro Lys Asn Gln Gly Ile Leu Arg Asn Trp Tyr Asn	
8019	8046
CCC AGT CGC AGG GTT AAG ACA GGC GTT AAT AAA ATA TCA AGT AGT AAA ACA GCC Pro Val Ala Gly Leu Arg Gln Ala Leu Ile Lys Tyr Gln Val Val Lys Gln Pro	
8073	8100
AGA GTA TTT GAT AGT GCC GGA AGA AGT TAT GCA GTA TAA ATT CAA ACA AAA GAG Glu Tyr Leu Ile Val Pro Glu Glu Val Met Gln Tyr Lys Phe Lys Gln Lys Arg	
8127	8154
AGC AGC TAT TCA TAT TAT GTT AGC TCT TGC GAC AGT GTT ATC TAT GGC TGG AGC Ala Ala Ile His Ile Met Leu Ala Leu Ala Thr Val Leu Ser Met Ala Gly Ala	
8181	8208
AGG AAC GGG TGC CAC TGC TAT TGG AAT GGT GAC TCA ATA TCA TCA AGT TTT GGC Gly Thr Gly Ala Thr Ala Ile Gly Met Val Thr Gln Tyr His Gln Val Leu Ala	
8235	8262
TAC TCA TCA ACA AGC ATT GGA AAA AAT AAC TGA GGC ACT GAA AAT AAA TAA TTT Thr His Gln Ala Leu Glu Lys Ile Thr Glu Ala Leu Lys Ile Asn Asn Leu	

明細書の序文(内容に変更なし)

8289	8316
AAG GCT AAT TAC CTT AGA GCA CCA AGT ATT AGT GAT AGG ATT AAG AGT AGA GGC Arg Leu Ile Thr Leu Glu His Gln Val Leu Val Ile Gly Leu Arg Val Glu Ala	
8343	8370
TAT AGA AAA ATT CTT ATA TAC AGC TTT TGC TAT GCA AGA ATT AGG ATG CAA TCA Ile Glu Lys Phe Leu Tyr Thr Ala Met Gln Glu Leu Gly Cys Asn Gln	
8397	8424
AAA TCA ATT CTT TTG TAA AAT TCC TCC CAG CCT ATG GAG TAT GTA TAA CAT GAC Asn Gln Phe Phe Cys Lys Ile Pro Pro Ser Leu Trp Ser Met Tyr Asn Met Thr	
8451	8478
TTT GAA TCA AAC AAT CTG GAA TCA TGG AAA TAT CTC ATT GGG GAA TTG GTA TAA Leu Asn Gln Thr Ile Trp Asn His Gly Asn Ile Ser Leu Gly Asn Trp Tyr Asn	
8505	8532
TCA AAC AAG AGA TTT GCA AAA TAA ATT TTA TGA GAT AAT AAT GGA TAT AGA ACA Gln Thr Arg Asp Leu Gln Asn Lys Phe Tyr Glu Ile Ile Met Asp Ile Glu Gln	
8559	8586
AAA TAA TGT ACA AGG GAA AAC TGG AAT ACA ACA ATT ACA GAA ATG GGA AAA TTG Asn Asn Val Gln Gly Lys Thr Gly Ile Gln Gln Leu Gln Lys Trp Glu Asn Trp	
8613	8640
GGT GGG ATG GAT AGG CAA AAT CCC TCA ATA TTT AAA AGG ACT TCT TGG TAG TGT Val Gly Trp Ile Gly Lys Ile Pro Gln Tyr Leu Lys Gly Leu Leu Gly Ser Val	
8667	8694
GTT GGG AAT AGG TCT AGG AAT CTT ACT ACT ACT TAT ATG CTT GCC TAC ATT AGT	

明細書の添付(内容に変更なし)

Leu Gly Ile Gly Leu Gly Ile Leu Leu Leu Ile Cys Leu Pro Thr Leu Val
 8721 8748
 AGA TTG TAT AAG AAA CTG TAC GAA TAA AAT ACT GGG ATA TAC AGT TAT TGC AAT
 Asp Cys Ile Arg Asn Cys Thr Asn Lys Ile Leu Gly Tyr Thr Val Ile Ala Met
 8775 8802
 GCC TGA AAT AGA TGA TGA AGA AGT ACA CCT ATC AGT GGA ATT GAG GAG AAA TGG
 Pro Glu Ile Asp Asp Glu Val His Leu Ser Val Glu Leu Arg Arg Asn Gly
 Met Ala
 8829 8856
 CAG GCA ATG TGG CAT ATC TGA AAA AGA GGA GGA ATG ATG AAG CAT CTC CGG ACT
 Arg Gln Cys Gly Ile Ser Glu Lys Glu Glu Glu
 Gly Asn Val Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Arg Asn Asp Glu Ala Ser Pro Asp Cys
 8883 8910
 GTA AAA TAC AGG AGA GAT GCT GAG CTG ATT TCT TCC CTT TGA GGA GGA TGT GTC
 Lys Ile Gln Glu Arg Cys Met Cys His
 8937 8964
 ATA TGA ATC CAT TTC AAA TCA AAA TAA CAT TAA AAT CTG TAT TGC AAG GCA AAC
 Met Asn Pro Phe Gln Ile Lys Ile Thr Leu Lys Ser Val Leu Gln Gly Lys Arg
 8991 9018
 GTA AGA GAC AAC GAA GAA GGA AGA AGA AGG CCT TCA AAC ATA TGA TGG CAA
 Lys Arg Gln Arg Arg Arg Lys Lys Lys Ala Phe Lys His Met Met Ala Asn
 9045 9072
 ATC TAG AGA ACC GCT TTA AGA TGC TGT TTG GCA CAC CGT CAA CCA CAG ACG AAA
 Leu Glu Asn Arg Phe Lys Met Leu Phe Gly Thr Pro Ser Thr Thr Asp Glu Thr

明細書の添付(内容に変更なし)

明細書の添付(内容に変更なし)

CAG	AAG	AAA	CAT	CTG	CAA	AAG	AAA	GCG	TGG	ACT	GCG	AAG	ATT	ATT	GCG
Glu	Glu	Lys	Thr	Ser	Ala	Lys	Glu	Lys	Arg	Val	Asp	Trp	Arg	Trp	Asp
PPT															

ATC	CTG	AAG	AAA	TAG	AGA	AAA	TGC	TGA	TGG	ACT	GAG	GCG	GCA	CAT	AAA	GTC
Pro	Glu	Glu	Ile	Glu	Lys	Met	Leu	Met	Asp							

ACA	GAT	GAA	AAA	CAG	CTG	AAA	TAT	ATG	AGT	CAG	AGT	TAA	ATG	CTA	GCA	GCT	GCT	TTA
Leu	Glu	Glu	Ile	Glu	Lys	Met	Leu	Met	Asp									

CCC	CAC	AAA	CAC	ATC	CTA	TGT	AAA	GCT	TGC	CGA	TCA	GTC	TCT	TCC	ATT	

GTA	AGA	GTA	TAT	AAC	CAG	TGT	TTT	TTA	AAG	CTT	CGA	GG				

(2) ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAのgag遺伝子に相補性を示すDNAであって、請求項1記載のDNAによりコードされるアミノ酸配列のうち、gag領域に対応するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNA。

(3) ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAのenv遺伝子に相補性を示すDNAであって、請求項1記載のDNAによりコードされるアミノ酸配列のうち、env領域に対応するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNA。

(4) 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAを含むプラスミド。

(5) プラスミドがpFIV-TM2又はpFIV-gag[NcolI]である請求項4に記載のプラスミド。

(6) 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAによってコードされるポリペプチドの全部又は一部。

特開平4-126085(13)

明細書の内容(内容に変更なし)

部をコードする塩基配列を有し、必要に応じて5'末端にメチオニンをコードするコドンを有するDNAが、プロモーターの下流に存在するベクター内のクローニング部位に導入されて含むことを特徴とする発現ベクター。

(Ⅵ) 発現ベクターがプラスミドである請求項6に記載の発現ベクター。

(Ⅶ) プラスミドがpAT-TriE-FIVgag又はpAT-FIVgagである請求項5に記載の発現ベクター。

(Ⅷ) 請求項6～8のいずれか一項に記載の発現ベクターで宿主を形質転換して得られた形質転換体。

(Ⅸ) 宿主が大腸菌である請求項9に記載の形質転換体。

(Ⅹ) 大腸菌がE.coli HB101株である請求項10に記載の形質転換体。

(Ⅺ) 請求項9～11のいずれか一項に記載の形質

明細書の内容(内容に変更なし)

転換体を培養し、蓄積して得られる組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチド。

(Ⅻ) 請求項12に記載の組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチドを抗原として含有するネコ免疫不全ウイルス感染診断用検査薬。

(以下省略)

3. 発明の詳細な説明

[産業上の利用分野]

本発明は、ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに相補性を示すDNA、該DNAを含むプラスミド及び発現ベクター、該発現ベクターを含むする形質転換体、該形質転換体を培養して得られる組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチド、並びに該ポリペプチドを含有するネコ免疫不全ウイルス感染診断用検査薬に関する。

[従来の技術]

後天性免疫不全症候群(Acquired Immunodeficiency Syndrome; AIDS)は、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)が引き起こす重篤な免疫不全症であり、現在では全世界的に広がりつつありその治療法の開発が望まれている。

AIDSの原因ウイルスとしてRNAを遺伝子として持つレトロウイルスであるヒト免疫不全ウイルス

1型(HIV-1)が最初に発見、分離され[M. A. Gruelら, Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A., Vol. 83, p. 4017, 1986]、また最近においては、バスター研究所のグループによって、AIDSの新しい病因ウイルスとして西アフリカのAIDS患者よりヒト免疫不全ウイルス2型(HIV-2)が発見、分離されている[T. Clercqら, Nature(London), Vol. 324, p. 691, 1986]。

一方、AIDSウイルスに類似するレトロウイルスがサルからも発見、分離されている。たとえば、ベンガルザルよりSIV-MAC [Neemarkら, Nature(London), Vol. 326, p. 548, 1987]、またアフリカミドリザルよりSIV-AGMが発見、分離されている。

ネコにおいては、最近、米国においてベタルマ株が単離され、その遺伝子のクローニングが報告されたのみである[R. A. Olsaroffら, P. N. A. S., Vol. 88(1991)]。このウイルスに感染することによ

特開平4-126085(14)

りその臨床像としては、様々な口内炎、慢性呼吸器疾患、慢性皮膚疾患、白血球減少、各種日和見感染症等が報告されている (Ishiiら, Jpn. J. Vet. Sci., Vol. 49, p. 1988)。

このウイルスの抗原性は、HIV, SIV, BIV, VMV血清などとは反応しないことが知られている。現在FIV感染症の診断は実験室において抗体の検出により行なわれているがこの方法は、感染リンパ球を抗原とした間接蛍光抗体法、精製ウイルスを抗原としたウエスタンプロット法が行なわれているのみである (Federiciら, Science, 235, 790, 1987)。

[発明が解決しようとする課題]

エイズの原因ウイルスであるHIVにおいては、個々のウイルス間でその塩基配列が変異しており、その多様性が見いだされている。このウイルスは場所によりあるいは経時的に変異し、遺伝的な均

一性がないため、このウイルスに対するワクチンの開発には多くの困難がある。従って、ニイズウイルスについての遺伝子の十分な解明が望まれている。

FIV-1, 2については、その一部のウイルスについて全塩基配列が決定されている [E. S. Sterniら, Cell, Vol. 45, p. 637 (1986); M. Grifiderら, Nature (London), Vol. 326, p. 662, 1987]。また、SIV-MAC, SIV-AGMについても全塩基配列が決定されている [H. Takashawaら, Nature, Vol. 333, No. 6172, p. 457 (1988); H. Tajimoto, Nature, Vol. 341, No. 6242, p. 539 (1989)]。しかしながら、ネコ免疫不全ウイルス(FIV)については、FIV-Petitjeanの全塩基配列が決定されているに過ぎない [P. H. A. S., Vol. 86, p. 5743 (1999)]。

また、上述の公知診断方法では、ネコ免疫不全症候群関連抗原以外の非特異的な反応を示す抗原

をも含んでおり、このような抗原の非特異的免疫反応によりいわゆる偽陽性の検体が生じFIV感染の診断精度が低下するという問題があった。

本発明者らは、FIV-TM2株について研究を重ねた結果、FIV-TM2株の遺伝子DNAに相補性を示すDNAの全塩基配列を決定することに成功した。そしてこの成功により新たなエイズウイルスのワクチン、診断薬の開発が可能となり得ることを知見し本発明を完成するに至った。

本発明の目的は、上記の従来技術の問題点を克服し、FIVに対する抗体と特異的に反応する高い抗原性を有するポリペプチドの遺伝子工学的生産法を開発すること、およびこのペプチドを抗原として用いたFIV感染の診断において極めて高感度で精度良く診断できる検査薬を提供することである。

[課題を解決するための手段]

本発明は、ネコ免疫不全ウイルス(FIV-TM2)の遺伝子DNAに相補性を示す、第1図に示される読み取り枠に従って、gag, pol, vif及びenv領域に対応する第1図に示されたアミノ酸配列をコードするDNAを提供する。

本発明のFIV-TM2の遺伝子DNAに相補性を示すDNAの単離及びクローニングは、以下のようにして行なうことができる。

ネコより末梢血を採取し、フィコールを用いた遠心法により末梢血单核球細胞(PBMC; Peripheral Blood Mononuclear Cell)を調製することによりウイルス感染を受けた細胞を得る。この細胞をコンカナバリンA、インターロイキン-2の存在下に培養し、正常ネコより分離したPBMCと共に更に培養し、染色体外DNAを単離することにより、レトロウイルスのRNAに相補性を

特開平4-126085(15)

持つDNAにより主として構成される二本鎖DNAが得られる。FIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAは、その全配列中に存在する制限酵素認識部位として、Saci部位を有することが明らかとなり、この制限酵素認識部位を利用してことによって、本発明のDNAのクローニングを有利に実施することができる。

PBMCから染色体外DNAとして得られた本発明のDNAクローニングは、以下のようにして行なうことができる。

得られた染色体外DNAを制限酵素Saciで消化し、他方同様にSaci部位を唯一箇所制限酵素認識部位として有するラムダファージベクター、例えば、ラムダサップ等を用いてこれをSaciで消化する。消化後得られる両者のDNAを通常の連結バッファー中にT1DNAリガーゼ存在下に反応させて結合する。次いで、得られた反応液を用いてisolation

ラッケージング反応を行ないファージ粒子を構成する。このファージ粒子をラムダファージに感染性の大腸菌、たとえばE-12株LE392(ATCC33572)等に感染させて、寒天培地上に培養しラムダファージの溶離プラークを形成させる。このプラークが形成された寒天培地上にニトロセルロース膜を密着させてラムダファージの一部をニトロセルロース膜上に固定化しプラークハイブリダイゼーション法により、目的とするFIV-TM2のRNAに相補性を有するDNAが組み込まれたファージプラークを同定する。これに用いるプローブとしては、FIV-TM2由来のgag-pol遺伝子を含む断片をそれぞれニックトランスレーション法によりラジオアイソトープにより標識したDNAを使用することができる。このプローブとハイブリダイズするファージプラークよりFIV-TM2のRNAに相補性を有するDNAが組み込まれたラムダファージDNAが得ら

れる。このようにして得られるFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAが組み込まれたラムダファージDNA（例えば、LambdazAP-FIV-TM2 DNA）を更に形質転換可能な大腸菌E-12株JM-109 [J. Messing, Gene, 33, 103 (1985)]にクローニングベクターpUC118を用いてサブクローニングを行なう。即ち、例えば、ラムダzAP-FIV-TM2を制限酵素Saciで消化し、得られる断片を同様の制限酵素部位を有するプラスミド、例えば、pUC118又はpUC119 [J. Messingら, Method in Enzymology, Vol. 153, pp. 1-11, 1987]等に組み込む。得られるプラスミドを用いて大腸菌を形質転換しアンビシリン等の抗生物質耐性をマーカーとして形質転換体を選択し、形質転換体から通常の方法、例えばアルカリ抽出法により、目的とするFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAを得ることができる。

このようにして得られたプラスミドを制限酵素

Saciで消化することにより、本発明のFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAが得られる。

またこのプラスミドは、FIV-TM2のウイルス構成蛋白質を発現するための発現ベクターの構築等に用いることができ、かかるプラスミドを提供することも本発明の目的の一つである。このようなプラスミドとしては、上記したようにpUC118にFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAが組み込まれたプラスミド(pFIV-TM2又はpFIV-gag[Neo])（第3図参照）以外にも、例えばpDC119等のpUC系プラスミド、pBB322などのpIB系ベクター等の通常使用される大腸菌由来のプラスミドにFIV-TM2のRNAに相補性を示すDNAを組み込んだプラスミドなどが挙げられる。

本発明のDNAの単離及びクローニングは、上記した方法に限定されず他の通常の方法によても行なうことができる。即ち、例えばネコから採取

特開平1-126085 (16)

したリンパ球を培養し、得られた感染細胞の染色体に組み込まれたFIV-TM2のDNAより通常の方法に従い単離及びクローニングを行なうこともできる。

本発明のDNAが組み込まれたプラスミド(FIT-TM2)を各種の制限酵素(BamHI, BamRI, RbaI, SstI, EcoRI, BglII)などによって切断することにより第2図に示したFIV-TM2のDNAに相補性を示すDNAの各種制限酵素地図を作成した。この制限酵素地図を基にFIV-TM2のDNAの各種制限酵素による切断フラグメントを調製し、各フラグメントをプラスミドpUC118, 119などにサブクローニングし、得られるサブクローンを用いて一本鎖ファージDNAを調製し、M13ジオキシン法(E. Sangerら, Proc Natl Acad Sci USA 74, p. 5463(1977))によって各フラグメントの塩基配列を決定した。

このようにして、FIV-TM2のDNAに相補性を示

す本発明DNAの全塩基配列を決定し、その全塩基配列を第1図に示した。

本発明で対象とするDNAは、第1図に示されるものに限定されず、第1図に示した塩基配列と実質的に同様の作用を示すDNA、例えば遺伝子コードの順序に基づく第1図に示した塩基配列の誘導体、第1図に示した塩基配列の一部が欠失した又は一部が修飾された誘導体も包含される。

第1図に示したように、FIV-TM2のDNAに相補性を示すDNAは、3326の塩基対(bp)からなる。その遺伝子の構成は、第2図に示したように、レンチウイルスで見られる構成と同じであり、5'LTR-LTR-5'poly-A-3'LTR-3'LTRで示される構成をしている。FIV-TM2に特徴的な点は、env領域の部分に4重系の小さなオープンリーディングフレームを有することである。これらの構成について以下に説明する。

1) LTR 遺伝子

LTR 遺伝子は、ウイルス遺伝子の両側に存在しウイルスの増殖に必須であり、また細胞の染色体DNAへのインテグレートに重要な役割を有するものである。FIV-TM2のLTR 遺伝子は、362bpからなり、その構成エレメントは、U3, R, U5であり夫々 215bp, 78bp, 63bpからなる。LTR 遺伝子には、第1図に示したようにプロモーター、ポリA付加シグナル、プライマー結合部位(PBS)などが存在している。

2) g-g 遺伝子

g-g 遺伝子は、ウイルス粒子の内部構造を構成する蛋白質の前駆体ポリペプチドをコードする遺伝子である。FIV-TM2のg-g 遺伝子は、63(から1380までのヌクレオチド)に相当し 130個のアミノ酸をコードしている。g-g 遺伝子によりコードされる前駆体ポリペプチドは、プロセッシングを受

けて3つの蛋白質p17, p21, p10になる。g-g 遺伝子により通常もっとも大量のウイルス蛋白質が発現されるので、かかるウイルス蛋白質に基づいてウイルス抗原を検出することができる。従って、g-g 遺伝子のRNAに相補性を示すDNAは、ウイルスの感染を診断する検査あるいは治療薬の開発に有用である。従って、本発明は、第1図に記載の本発明DNAによりコードされるアミノ酸配列のうち、g-g 領域に対応するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNAも提供する。かかるg-g 遺伝子のRNAに相補性を示すDNAは、例えば、SstI-HpaIなどの制限酵素によって切りだすことができる。

3) p o I 遺伝子

p o I 遺伝子は、逆転写酵素をコードする遺伝子であり1175から5247までのヌクレオチドに相当し、1114個のアミノ酸をコードしている。また、その

特開平4-126085(17)

塩基配列のうち105bpがFIV-遺伝子とオーバーラップしている。

(1) vif 遺伝子

FIV-遺伝子は、FIV-TM2 遺伝子の中心部に位置しており5242から5994までのヌクレオチドに相当し、251アミノ酸をコードしている。

(2) env 遺伝子

FIV-遺伝子は、ウイルスの感染能を規定するウイルス粒子の表面の糖蛋白質をコードする遺伝子である。6270から8836までのヌクレオチドに相当し、外部糖蛋白質(EGP)とトランスマンプレン蛋白質(TM)との前駆体ポリペプチドをコードしている。env 遺伝子は、ウイルス感染性を決める糖蛋白質をコードするものであり、従ってFIV-遺伝子、すなわちFIV-遺伝子のRNAに相補性を有するDNAは、ネコ免疫不全症候群に対するワクチン、診断薬等を開発するための極めて有用な手段となる。

りえるものである。それゆえ、本発明はまた、第1図に記載の本発明DNAによりコードされるアミノ酸配列のうち、env領域に対応するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含むDNAも提供する。env 遺伝子のRNAに相補性を示すDNAは、例えば、制限酵素HindIIIなどで消化することによりFIV-TM2のDNAから切りだすことができる。

本発明はまた、第1図に示される本発明DNAによってコードされるポリペプチドの全部または一部をコードする塩基配列を有し、必要に応じて5'末端にメチオニンをコードするコドンを有するDNAが、プロモーターの下流に存在するベクター内のクローニング部位に導入されて含むことを特徴とする発現ベクターを提供する。ベクターとしては、プラスミド、ファージなどの慣用のベクターが使用できる。またプロモーターとしては、大腸菌、ファージ、酵母等に由来の慣用のプロ

モーターが挙げられ、後述の実施例ではトリプトファン合成酵素オペロン(Trip)が使用される。

本発明の発現ベクターの作製方法を以下に説明する。ここではFIVのgag領域遺伝子をコードする発現ベクターの作製を例示するが、その他本発明DNA又はそのDNA断片の場合にも類似の方法で作製することができる。

プラスミドpFIV-gag(Ncol)の作製(第3図参照)

FIV-TM2の遺伝子をコードするプラスミド(pFIV-TM2)より制限酵素HindIII-EcoRIを用いて完全に切断後、pFIVの5'側をコードする101塩基対のフラグメントを常法に従い低融点アガロースゲル電気泳動にて分離し、回収した。得られたフラグメントをクローニングベクターM13mp19をHindIII-EcoRIにて切断したものとT4-DNAリガーゼにて結合し、この反応液を用いて大腸菌E-12株(M13)を形質転換し、LB-プレート上にて白色を呈す

る形質転換細胞を選択した。得られたクローンから、アルカリ法によりプラスミドを抽出し、制限酵素分析によって目的とする組換え体であることを確認した。この培養液より常法により一本鎖DNAを調製した。

得られた一本鎖DNAを用いてFIV-pFIVの開始コドンの上流に制限酵素認識部位Ncolの導入を、TAKEKA MaxiTM-Gキットを用いてマニュアル通りに実施した。一本鎖DNAとM13mp (M13mp11のマルチクローニングサイトを含むFIV断片を消失させたファージ)の二本鎖DNAをFIVにて消化したものとアニーリングバッファーを混合しGapped-duplex DNAを形成させた。この溶液に変異導入用合成オリゴマー(5'-CATTCGGCCATCGTGCTGTAGA-)を混合し、65°Cで15分間、37°Cで15分間静置した後、エクステンションバッファー、DNALリガーゼ、T4-DNAポリメラーゼを加え25°Cで

特開平4-126085(18)

2時間反応を行った。その後0.2M EDTA(PIP)を加えておいて5分間加熱し反応を停止させ、この培液を用いて大腸菌T4B71-Tk⁻株を形質転換した。SOC培地と共に1時間培養後、上清を遠心後回収し、大腸菌MV111培養液と共にLBプレートにてブラークを形成させた。得られたブラークから常法によりプラスミドDNAを抽出し、制限酵素分析及び塩基配列の決定により目的のクローンであることを確認した。

得られたプラスミドを制限酵素EcoRI-RbaIⅡ(各8ユニット)により切断後、低融点アガロースゲル電気泳動法により約1.1kbのフラグメントを分離、抽出した。pET-TK2より制限酵素EcoRI-Tk⁻にて消化後、常法により低融点アガロースゲル電気泳動法によりgag遺伝子の後半部分に相当する1287塩基対のフラグメントを抽出した。得られたフラグメントをクローニングベクター

[pET22b(+)-S1(-)]をEcoRI-Tk⁻にて切断したベクターと共にT4DNAリガーゼにより結合し、大腸菌E. coli JM109株に形質転換した。得られた形質転換細胞よりプラスミドDNAを調製し、制限酵素分析により目的のクローンを選択した。得られたプラスミドをEcoRI-HindⅢにより完全に消化後、低融点アガロースゲル電気泳動法により分離、抽出した。得られたフラグメントと先に得たgagのS'側に相当する約0.7kbのフラグメントをT4DNAリガーゼにより結合し、大腸菌E. coli JM109株を形質転換した。

得られた形質転換細胞から常法によりプラスミドを抽出し、制限酵素分析及び塩基配列の決定により目的のクローンであることを確認した。得られたプラスミドをpET-TK1[pETtk]と命名した。このプラスミドは大腸菌株に移入され、Escherichia coli JM109/pET-TK1[pETtk] (平成2年1月

16日付寄託、兼工研蓄第11611号)として寄託されている。かかるプラスミドpET-TK1[pETtk]も本発明の範囲に包含される。

pET-TK1 発現用ベクターの作製(第4回参照)

pAT-Tk⁻E-TGF- α ⅡをEcoRI-S111にて切断後、常法により低融点アガロースゲル電気泳動にてベクターフラグメントを分離、精製した。EcoRI-S111-Kcl-Tk⁻-S111部位を有する合成フラグメントAAATTCAATCGATAACCATGGCTCTGAACACTCTAGAG,ATCGACTCTAGAGTCCTCAGACCATGGCTATCGATGをベクターフラグメントと混合し、T4-DNAリガーゼにより結合し、大腸菌E. coli RR101株を形質転換した。得られた形質転換細胞より常法によりプラスミドDNAを抽出し、制限酵素分析により目的とするものであることを確認した。この発現用プラスミドをpAT-Tk⁻E-TGF- α Ⅱと命名した。pAT-Tk⁻E-TGF- α Ⅱを制限酵素Kcl-Tk⁻にて消化後、常法によりベクターフ

ラグメントを低融点アガロースゲル電気泳動により分取した。

先に作製したpET-TK1[pETtk]を上記と同様に処理し、1570塩基対よりなるgagフラグメントを同様に調製した。

これらのフラグメントを混合し、T4DNAリガーゼにより結合し、大腸菌E. coli RR101株を形質転換した。得られた形質転換細胞から常法によりプラスミドを調製し、制限酵素分析を行い目的とするものであることを確認した。得られたプラスミドをpAT-Tk⁻E-TGF- α Ⅱと命名した。このプラスミドは大腸菌株に移入され、Escherichia coli RR101/pAT-Tk⁻E-TGF- α Ⅱ(平成2年1月16日付寄託、兼工研蓄第11610号)として寄託されている。

pET-TK1 直接発現型ベクターの作製は、以下のように行なう。

pAT-Tk⁻E-TGF- α Ⅱを制限酵素S111にて切断後、

特開平4-126085 (19)

37°Cにて酵素を失活させた後このうちの1/10を用いてTADMAリガーゼにて再結合を行った。この反応液を用いて大腸菌E12 RBL01株を形質転換し、得られた形質転換細胞から制限酵素分析により目的とするプラスミドを確認した。得られたプラスミドをpAT-TIV₁₁と命名した。このプラスミドは大腸菌株に移入され、Escherichia coli RBL01/pAT-TIV₁₁（平成2年1月16日付寄託、微研菌寄第11612号）として寄託されている。

本発明の実施態様により、本発明は発現ベクターとしてpAT-TriPE-TIV₁₁及びpAT-TIV₁₁を含む。

本発明は、さらに、上述の本発明発現ベクターで宿主を形質転換して得られた形質転換体を提供する。宿主としては、大腸菌、枯草菌、酵母などのこの分野で慣用される微生物が使用できる。好ましくは、宿主は大腸菌、例えばE. coli RBL01株である。形質転換は常法に従って行うことがで

き、例えば大腸菌の場合には、Mitterらの方針【Mitter, Miedl と Biggs, A., J. Mol. Biol. 53, 159 (1970)】で実施し得る。

さらに、本発明形質転換体を以下に示すように、適切な培地中で培養して組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチドを得ることができる。従って、本発明は組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチドをも提供するものである。本明細書中、「組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチド」は、組換え操作で得られた、FIVポリペプチド及びFIVポリペプチドを含むポリペプチドを意味する。ここで、FIVポリペプチドは、本発明DNA又はそのDNA断片によりコードされるオリペプチドをいう。

pAT-TriPE-TIV₁₁で大腸菌E12 RBL01を形質転換した後、LB培地中アンピシリン(50μg/ml)存在化37°Cにて一晩培養した。この培養液をM9

C A 培地に加え吸光度が600 nmにおいて約0.3となるまで培養を行いB-インドールアクリル酸を20μg/mlの濃度になるように加え更に6時間培養を行った。この培養液の一部を遠心により粗体を沈殿後、0.1%Laemmli等の方法【Nature, vol.227, 680-685 (1970)】に従って調製した試料用緩衝液を加え10分間煮沸後、10-20%のポリアクリルアミドのグラジェントゲルで電気泳動を行った。泳動後、H. Towbinらの方法【Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 4350-4354 (1978)】に従ってWesternブロッティング分析を行った。一次抗体は、FIV感染ネコ血清を用い、二次抗体はCappel anti-cat IgG (R+L) BFPを用いた。以上の方法で発現を確認後、粗体を0.1M Tris(pH 5)中で超音波破砕し、不溶性画分を遠心により集めた。この画分を1~1M尿素にて抽出後、1M尿素を含む10mM DTT, 1M NaCl, 0.1M Tris-HCl溶液にて45°Cで60分間加

熱し抽出した。このようにして得られたTriPE-TIV₁₁融合蛋白質の精製度は約60%であった。

得られた前記融合蛋白質は、例えばプロテアーゼ処理もししくは臭化シアン処理により限定分解を行うことによって、FIV-t11蛋白質またはその断片に分離してもよい。

あるいは、pAT-TriPE-TIV₁₁と同様に、例えばFIV-t11直接発現型ベクターpAT-TIV₁₁で大腸菌株を形質転換し、ベクターを発現させた場合には、FIV-t11蛋白質を直差得ることができる。

TriPE-TIV₁₁融合蛋白質、FIV-t11蛋白質、これらの蛋白質断片などの本発明組換え型FIVポリペプチドは、FIV-TM株(TM1及びTM2)感染ネコ血清中のFIV抗体と高感度、高精度で抗原抗体反応することが分かった(第5図)。このとき、該ポリペプチド抗原はFeLV(ネコ白血病ウイルス)感染ネコ血清とは陰性反応(第6図)を示すこと

特開平4-126085 (20)

から、FIV感染の診断に極めて有効に使用し得る。

従って、本発明はまた、組換え型ネコ免疫不全ウイルスポリペプチドを抗原として含有するFIV感染診断用検査薬を提供する。

上記のようにして精製したポリペプチドを用いて以下に示す検査方法を行なう方が良好な結果を示すが、場合によっては固体破砕後の抽出物をそのまま用いてウェスタンプロット法により検出することも可能である。

次に上記方法により得られたポリペプチドを抗原に用いてFIV感染ネコを診断するための検査薬について述べる。

この検査薬は、ポリペプチドを抗原として、被検液中からこの抗原と抗体-抗体反応を生じるgagに対する抗体を検出することでFIV感染を診断するものである。この被検液にはFIVへ

の感染の診断を望むネコから常圧により血漿を採取し分離された血漿または血清、あるいは、これを適当な緩衝液により希釈したもの用いる。

FIV-gag 蛋白質によるELISAを用いたFIV-gag 抗体の検出法は、以下のように行う。

ELISA用マイクロプレートに15.2μg/mlの濃度のFIV-FIV-gag 蛋白質(抗原)を50μl/wellずつ分注し、4℃にて一晩放置する。抗原を捨てた後PBSにて洗浄後、3%ゼラチン/PBS培液を0.1ml/well分注し室温で1時間放置する。更にTPBS培液にて洗浄し、抗体希釈液にて希釈したネコ血清を加え、室温で1時間放置する。TPBS培液にて2回洗浄後、二次抗体として1:10000 IgG HRPを用い50μl/wellずつ分注する。TPBSにて洗浄後発色液を加え、1時間静置した後、吸光度を波長415nmにて測定する。

このような方法以外にも、抗原-抗体反応によ

って生じる不溶性担体粒子上の凝集反応を検出する方法が挙げられる。精製度が不十分な場合にはウェスタンプロット法により検出することが望ましい。

本発明により、

1) FIV-TM2 の遺伝子DNAに相補性を示すDNAの全塩基配列から推定される、FIV-TM2 が作る蛋白質のアミノ酸配列により、診断用検査薬、治療薬、ワクチンなどの開発に有用な蛋白質の合成が可能となった；

2) FIV-TM1 の遺伝子DNAに相補性を示すDNAを含むプラスミドに基づきFIV-TM2 のウイルス構成蛋白質を発現するための発現ベクターを構築することができた；

3) FIV 遺伝子のDNAによりネコ免疫不全症候群に対するワクチン、診断用検査薬等の開発が可能となった。同様に、FIV 遺伝子のDNAによっても

ワクチン、診断用検査薬等の開発が可能となった。

以下の実施例により、本発明を更に詳細に説明する。

[実施例]

酵素、DNA

各種制限酵素は、宝酒造、日本ジーン、ファルマシアより購入したものを用い、酵素反応に用いる緩衝液は、10倍濃度のものを調製した。底盤は、オートクレーブにより行なった。各緩衝液の組成は、制限酵素に添附されている説明書を基本的に採用した。

T4DNAリガーゼは、ファルマシアのものを使用し、反応用緩衝液は、50mMトリス塩酸(pH7.5)、10mM塩化マグネシウム、1mM DTT、1mM ATPとなるようにして、16℃にて一晩反応した。

クローニング用ファージベクターは、Stratagene社製のラムダZIPを用いた。

特開平4-126085 (21)

クローニング用プラスミドとしては、宝酒造製のpUC118.119を用いた。

塩基配列決定用のベクターとしては、ファルマシア製のM13mp18.19を用いた。

In vitroパッケージングには、Stratagene社製の、GigaPackを使用した。

染色体外DNAの抽出

ウイルスに感染している、ネコ末梢血単核球を、 10^7 個／ml濃度になるようにコンカナバリンAを加え 10% 胎児血清 $100\mu\text{l}$ /mlのヒト組み換えインターロイキン2を含むRPMI1640培地にて12時間培養を行なう。

ハートラの方法 [J. Mol. Biol., 26, 365 (1967)]に従って、染色体外DNA(extrachromosomal DNA)を、調製した。 10^7 細胞に対して染色体外DNA、 0.6% SDS、 10mM EDTA (pH 7.5) 1mlを加え、ゆっくり回転して振拌を行なう、4℃で8時間放置

後、 $11000\times g$ で30分間遠心し、上清を得る。この培液を、さらにプロナーゼK処理し、フェノール処理を行ない、エタノール沈殿を2回繰り返したものについて、以後の実験に用いた。

染色体外DNA中の制限酵素認識部位の検出

クローニングを行なうに当たって、染色体外DNA中に唯一存在する制限酵素の切断部位を検出するために、染色体外DNAをXbaI、PstI、HindIII、PvuII、SacIの5種類の制限酵素によって切斷し、 0.7% アガロースゲル電気泳動を行なった。このゲルをザーン法により、ニトロセルロースフィルターに転写し、ハイブリダイゼーションを行なった。プローブは、FIV-Tetralin株由来の、env領域を含む、4オロベースのDNAをニックトランスレーション法により、 ^{32}P でアイソトープラベルしたものと、使用した。ニックトランスレーションは、アマシャム社製

のキットを用い、非活性として、 1×10^7 cpm/mlDNAを有するプローブを得た。ハイブリダイゼーションは、 30% ホルムアミド、 6MSSC 、 $5\times\text{Denhardt's}$ 、 0.5% SDS存在下、 1×10^6 cpm/mlとなるようにプローブを加えて、 42°C で18時間行なった。洗浄の条件としては、 $2\text{MSSC}/0.1\%$ SDSで 50°C 、30分後、 $0.5\text{MSSC}/0.1\%$ SDSにて、 50°C 15分間行なった。このフィルターを -70°C で、一晩露出させ現像した。この結果より、染色体外DNAはSacIにて一箇所切斷させることが示された。

染色体外DNAライブラリーの作製

染色体DNA(2mg)を制限酵素SacI(10unit)にて完全に切斷後、反応液を、等量のフェノール／クロロホルム(1:1)混液にて2回抽出を行ない、2等量のエタノールを加え、 -10°C 、10分間放置後、遠心によりDNAを沈殿として得た。沈殿を、20mlのTE(pH 7.0)に溶解し、 $1/5$ 量、

4ml(10ml)に、 $1\text{ZAP}(Saci)$ 1mlを加え、全量を10mlになるようにして、T4-DNAリガーゼと一緒に反応した。この反応液の半量を用いてIn vitroパッケージング反応を行なった。得られたパッケージング反応液 0.5ml より一部を採り、 10 倍、 100 倍希釈したものを用いて、タイトレーションを行なった。タイトレーションは、指示菌として、大腸菌K-12株LE392を用いた。軟寒天培地中に塩化マグネシウムを含むLB培地にて一晩培養した、指示菌を加え希釈したファージ溶液を加えLB培地に重層し 37°C で一晩培養した。出現したplaques数を数えて、このライブラリーのタイマーとした。

ファージライブラリーのスクリーニング

FIV-TM2のDNAを育するファージ(ラムダ λ -FIV-TM2)のスクリーニングは、得られたファージライブラリーよりplaquesハイブリダイゼーション

特開平4-126085 (22)

・ン庄により行なった。1枚のプレートについて、約5千個のファージブラークが出現するようになります、合計5万個のブラークについて、行なった。ニトロセルロースフィルターにブラークを写し取り、常法に従って、ブラークハイブリダイゼーションを行なった。プローブとしては、FIV-TM2の株由来の λ -gt101領域をコードする2.7キロペースフラグメントを、ニックトランスレーション庄によりアソートープラベルしたもの用いた。ハイブリダイゼーションの条件は前に記したものと同様の方法にて行なった。得られたシグナル陽性を示すブラークを単一なブラークとして得られるまでこの操作を繰り返し行なった。

クローニ化されたFIV-TM2のサブクローニングハイブリダイゼーションにて陽性を示す单一ブラークをプレートからかき取り硫酸マグネシウムを含むLB培地にて37°C、8時間培養した。得ら

れた培養液にクロロオルム1滴を加えて、置しく攪拌し、1000gにて30分間遠心を行なった。得られた上清にSM緩衝液(50mM Tris-HCl(pH7.0), 10mM NaCl, 0.2% TritonX-100)を等量加え、DNaseIを加え、室温で30分間放置する。この溶液に20%PEG6000/1.5M塩化ナトリウム溶度半等量加え、氷中にて1時間放置した後、10000gにて遠心した。得られたファージの沈澱を0.1mlのSM緩衝液に懸濁し、等量のクロロフォルムを加えて良く混ぜ合わせ、遠心し、水層を分離した。この操作を繰り返し、ポリエチレングリコールを除去した。水層に、最終濃度5mMとなるようにEDTA及び、25mMとなるように塩化ナトリウムを加えた後に、フェノール抽出を行なった。この操作を、再度繰り返し、エタノール沈澱によりDNAを回収した。以上のようにして得られた、12AP-FIV-TM2 DNAを、制限酵素SaciIにて切断後、低融点アガ

ロースゲル電気泳動で、1.5キロベースのフラグメントを分離しDNAを抽出した。得られたDNAフラグメントをPUC11.1(SaciI) 2.0kbと混合しリガーゼ液存在下、T4-DNAリガーゼを加え16°Cにて一晩反応した。この反応液を用いて、大鼠K-12株JM109を形質転換し、IG-Absプレート(LB-プレート中、0.004% X-gal, 0.1mM IPTG, 50μg/ml ampicillin)にて、選択し得られた形質転換細胞より、アルカリ法にてプラスミドDNAを調製した。

塩基配列の決定

得られた制限酵素地図を基にして、各制限酵素の切断フラグメントを低融点アガロースゲル電気泳動により分離し常法により回収した。得られたフラグメントをM13mp18, 19の各領域にクローニングした。各フラグメントを持つ組換え体の形質転換細胞(E. coli JM109, 18)をLB培地にて、

一晩培養しこの培養液1mlを遠心した上清をを集めた。これに20%PEG6000/1.5M NaClを加え、室温にて放置後、遠心しファージ粒子を沈澱として得た。沈澱をTAE緩衝液に懸濁しフェノール抽出を行ない、エタノール沈澱により一本鎖DNAを得た。これをTAE緩衝液(10mM Tris-HCl(pH7.5)/1mM EDTA/10mM NaCl)に溶解しシーケンシング反応に用いた。

シーケンシング反応は、宝酒造のジテオキシシーキットもしくはSequenaseTMのシーケンシングキットを用い、プライマーとしては、M13プライマー(17塩基)を用い、[α-³²P]dCTPにて標識を行なった。配列解読用のゲルは、10又は14cmの長さのものを用い、尿素存在下、6又は8%アクリルアミド、TBE緩衝液(19mM Tris-HCl, 92mM硫酸銅, 1mM EDTA)により泳動を行なった。泳動は、3000Vで行ない、泳動後ゲルを乾

特開平4-126085 (23)

撮し Kodak X 線フィルム (X R - S) にて露光後、現像した。得られたデータは、IntelliGenetics Inc. のプログラムを用いて処理した。

FIV-gag の開始コドン上流への制限酵素認識部位の導入

FIV-TM2 の遺伝子をコードするプラスミド pFIV-TM2 (2 kbp) より制限酵素 *Bln* III - *Eco* RI (各 8 ユニット) を用いて完全に切断後、gag の 5' 頭をコードする 787 基基対のフラグメントを常法に従い低融点アガロースゲル電気泳動にて分離し、回収した。得られたフラグメントをクローニングベクター M13mp18 を *Bln* III - *Eco* RI にて切断したものと T4-DNA リガーゼにて結合し、この反応液を用いて大腸菌 E. coli JM109 を形質転換し、LB プレート上にて白色を呈する形質転換細胞を選択した。得られたクローンから、アルカリ法によりプラスミドを抽出し、制限酵素分析によっ

て目的とする組換え体であることを確認した。この培養液より蛋白により一本鎖 DNA を調製した。得られた一本鎖 DNA を用いて FIV-gag の開始コドンの上流に制限酵素認識部位 *Nco* I の導入を、TAKARA *Msp* I - G キット (宝酒造) を用いてマニュアル通りに実施した。一本鎖 DNA (0.1 μg) と、*Msp* I P (0.1 μg) 及びマルチクローニングサイトを含む Pst I 断片を欠失させたファージの一本鎖 DNA を Pst I にて消化したもの (0.1 μg) とアーリーリングバッファー (200mM Tris-HCl, pH 8.0, 100mM $MgCl_2$, 500mM NaCl, 10mM DTT) (1 μl) を混合し、滅菌水を加えて全量を 10 μl にした。これを 100 °C 3 分、65 °C 10 分静置し Gapped-digested DNA を形成させた。この溶液に変異導入用合成オリゴマー (pGATTCCTCCATGGCTGTAGA) 1 pmol を混合し、65 °C 15 分、37 °C 15 分静置した後、エクステンションバッファー (50mM Tris-HCl, pH 8.0, 50mM

CR₃ COONa, 5mM $MgCl_2$, 5mM DTT, 1mM NAD, 0.5 mM DATP, 0.5mM dGTP, 0.5mM dCTP, 0.5mM dTTP) 25 μl, DNA リガーゼ (60 ユニット), T4 DNA ポリメラーゼ (1 ユニット) を加え 25 °C 2 時間反応を行った。その後 0.2M EDTA (pH 8) 3 ml を加えて 65 °C 5 分加熱し反応を停止させ、この培液を用いて大腸菌 BMH1-T18S15 を形質転換した。SOC 培地と共に 1 時間培養後、上清を達心後回収し、大腸菌 M13mp18 培養液と共に LB プレートにてブラークを形成させた。得られたブラークから常法によりプラスミド DNA を抽出し、制限酵素分析及び塩基配列の決定により目的のクローンであることを確認した。得られたプラスミド (1 kbp) を制限酵素 *Eco* RI - *Bln* III (各 8 ユニット) により切断後、低融点アガロースゲル電気泳動法により約 0.7 kbp のフラグメントを分離、抽出した。

FIV-gag 遺伝子の作製

pFIV-TM2 (2 kbp) より制限酵素 *Eco* RI - *Bln* III (各 8 ユニット) にて消化後、常法により低融点アガロースゲル電気泳動法により gag 遺伝子の後半部分に相当する 1287 基基対のフラグメントを抽出した。得られたフラグメントをクローニングベクター (Stratagene 社の pBluetripl-SK (-)) を *Eco* RI - *Bln* III にて切断したベクター (Sfrag) と共に T4-DNA リガーゼにより結合し、大腸菌 E. coli JM109 株に形質転換した。得られた形質転換細胞よりプラスミド DNA を調製し、制限酵素分析により目的のクローンを選択した。得られたプラスミド (1 kbp) を *Eco* RI - *Bln* III (各 8 ユニット) により完全に消化後、低融点アガロースゲル電気泳動法により分離、抽出した。得られたフラグメントと先に得た Sfrag の 5' 頭に相当する約 0.7 kbp のフラグメントを T4-DNA リガーゼにより結合し、大腸菌 E. coli JM109 株

特開平4-126085(24)

を形質転換した。得られた形質転換細胞から常法によりプラスミドを抽出し、制限酵素分析及び塩基配列の決定により目的のクローンであることを確認した。得られたプラスミドをFIV-pgr[Ncol]と命名した。

FIV-gag 発現用ベクターの作製

pAT-TryE-TGE-α II (特願昭63-28101参考) (14) EcoRI-Sall (各8ユニット)にて切断後、常法により低融点アガロースゲル電気泳動にてベクターフラグメントを分離、精製した。EcoRI-Cla-Ncol-EcoRI-Sall部位を有する合成フラグメント 5'ATTCAATCGATACCATGGCTGTGAACACTCTAGAG, 3'TCGACTCTAGACTGTTCAAGACCATGGTATCGATG, 各11.5kbをベクターフラグメントと混合し、T4-DNAリガーゼにより結合し、大腸菌E. coli HB101株を形質転換した。得られた形質転換細胞より常法によりプラスミドDNAを抽出し、制限酵素分析により目的とする

ものであることを確認した。この発現用プラスミドをpAT-TryE-Ncolと命名した。pAT-TryE-Ncol (14) を制限酵素 EcoI-IbaI (各8ユニット)にて消化後、常法によりベクターフラグメントを低融点アガロースゲル電気泳動により分取した。先に作製したpIT-gag [Ncol] (14) を上記同様に処理し、1510塩基対よりなるgagフラグメントを同様に調製した。これらのフラグメントを混合し、T4-DNAリガーゼにより結合し、大腸菌E. coli HB101株を形質転換した。得られた形質転換細胞から常法によりプラスミドを複製し、制限酵素分析を行い目的とするものであることを確認した。得られたプラスミドをpAT-TryE-FIVgagと命名した。

FIV-gag 直接発現型ベクターの作製

pAT-TryE-FIVgag (100ug) を制限酵素 ClaI (8ユニット)にて切断後、68°Cにて酵素を失活させた後このうちの1/10を用いてT4-DNAリガーゼにて

再結合を行った。この反応液を用いて大腸菌E. coli HB101株を形質転換し、得られた形質転換細胞から制限酵素分析により目的とするプラスミドを確認した。得られたプラスミドをpAT-FIVgagと命名した。

T_{sp}E-FIVgag 融合蛋白質の発現、精製

pAT-TryE-FIVgagで大腸菌E. coli HB101を形質転換したのち、LB培地中アンビシリン (50mg/ml) 存在下37°Cにて一晩培養した。この培養液 (10ml) をM1C A培地 (5.5mM NH₄Cl, 0.05% NaCl, 0.1% KH₂PO₄, 2mM MgSO₄, 0.2% グルコース, 0.1mM CaCl₂, 1.2% カゼミノ酸) (1L) に加え吸光度がOD₆₀₀において約1.0となるまで培養を行いβ-インドールアクリル酸を20μM/mlの濃度になるように加え更に6時間培養を行った。この培養液の一部を遠心により菌体を沈殿後、0.1M Tris-HCl等 [Nature, Vol. 227, 610-615 (1970)]

の方法に従って調製した試料用緩衝液を加え10分間煮沸後、10-20%のポリアクリルアミドのグラジエントゲルで電気泳動を行った。泳動後、E. coli等 [P. N. A. S. USA, 76, 4350-4354 (1979)] の方法に従ってWestern blotting分析を行った。一次抗体は、FIV感染ネコ血清を用い、二次抗体はCappel社のanti-calf IgG (H+L) RBPを用いた。以上の方法で発現を確認後、菌体を0.1M Tris-HCl等 [Nature, Vol. 227, 610-615 (1970)] 中で超音波破碎し、不溶性蛋白分を遠心により集めた。この蛋白分を1-M尿素にて抽出後、1M尿素を含む10mM DTT, 1M NaCl, 0.1M Tris-HCl 液にて45°C 60分間加熱し抽出した。このようにして得られたTrpE-FIVgag 蛋白質の精製度は約80%であった。

同様に、FIV-gag 直接発現型ベクター pAT-FIVgag で大腸菌株を形質転換し、ベクターを発現させた場合には、FIV-gag 蛋白質が得られた。

特開平4-126085 (25)

FIV-gag蛋白質によるFIV-gag抗体のELISA検出法

ELISA用マイクロプレート (Nunc-immuno plate Maxisorp F96) に 15.2 μg/ml の濃度の TrpE-FIV gag 蛋白質（抗原）を 50 μl/ウェルずつ分注し、4 °C にて一晩放置する。抗原を捨てた後 PBS にて洗浄後、3 % ゼラチン/PBS 淀粉を 0.1 ml/ウェル分注し室温で 1 時間放置する。更に TPS 淀粉 (0.05% Tween/PBS) にて洗浄し、抗体希釈液 (50 mM Na₂CO₃, 50 mM NaHCO₃, pH 9.6) にて希釈したネコ血清を加え、室温で 1 時間放置する。TPS 淀粉にて 2 回洗浄後、二次抗体として anti-cat IgG HRP を用い 50 μl/ウェルずつ分注する。TPS にて洗浄後発色液を加え、1 時間静置した後、吸光度を波長 415 nm にて測定する。以上のようにして、FIV-TM株を実験感染したネコの血清を用いて測定した結果、第 5 図に示すよう

に接種前、接種後 3 週間、8 週間後に於て抗体価の上昇が見られた。

FIV, FeLV 感染血清での交差反応性を確認するために、FIV(-), FeLV(+) ネコ血清、FIV(+), FeLV(-) ネコ血清、FIV(+), FeLV(+) ネコ血清を用いて測定した結果を第 6 図に示したが、FIV(+) 血清においては、陽性の結果を示すが、FIV(-), FeLV(+) においては陰性でありこの診断薬は FeLV 感染血清との交差は見られないことが示された。

[発明の効果]

以上に詳述した本発明で提供される FIV-TM2 の遺伝子 RNA に相補性を示す DNA 及び FIV-TM2 の遺伝子 RNA に相補性を示す DNA の一部でその gag, env 遺伝子にそれぞれ相当する DNA は、これを発現させることによって、ネコ免疫不全症候群の診断用検査薬、治療薬等の開発に有

用な FIV ポリペプチドを得ることができた。

このポリペプチドは、特に、FIVに対する抗体と特異的に反応する良好な抗原となることから、FIV 感染ネコの診断用検査薬として使用できる。また、他の非特異的免疫反応を生ずる抗原を含んでいないため FIV に感染していないにも関わらず陽性としての結果を生じるいわゆる偽陽性の検体を生じることなく FIV 感染の診断を行なうことができる。従って、本発明による診断薬は、FIV 感染ネコの早期発見、感染防止を行なうことができ産業上の利用価値は極めて大きいものである。

さらにまた、ネコ免疫不全ウイルス研究の有用性という点で HIV, SIV 遺伝子の核酸配列の比較よりこれらのウイルス群の変異、進化のパターンを予測することができ、ワクチン開発において重要な知見を得ることが可能であるということ

が挙げられる。また、ヒト免疫不全症候群の感染から発症への機序の解析を実験的に可能とするためこのウイルス DNA を用いた系は、ワクチン開発、治療法開発、の動物実験モデルとして利用できる。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は、ネコ免疫不全ウイルス (FIV-TM2) の RNA に相補性を示す DNA の全塩基配列及びこの塩基配列から推定される、 gag, pol, env 及び gag 領域に対応するアミノ酸配列を示し、また第 2 図は、FIV-TM2 の RNA に相補性を示す DNA の制限酵素地図と遺伝子構成を示す。

第 3 図は、FIV-gag 遺伝子をコードするプラスミド pFIV-gag [Ncol] の構造手順を示し、また第 4 図は、FIV-gag 発現用ベクター pAT-T1R-E-FIV gag 及び FIV-gag 直接発現型ベクター pAT-FIV gag の構造手順を示す。図中、Kpn はアンピシリン耐性遺

特開平4-126085(26)

伝子を、また → は複製開始点をそれぞれ示す。

第5図は、FIV-III 発現蛋白質を抗原として用いる、FIV-TM株接種前後のネコ血清中 FIV-III 抗体のELISA測定結果を示し、図(A)はFIV-TM株を、また図(B)はFIV-TM2株を夫々接種した場合である。さらに、第6図は、FIV又はFeLV感染ネコ血清とFIV-III 発現蛋白質との交差反応性をELISAで分析した結果を示す。

第 / 図 (Xの1)

TCG GAA CAT TAT TCG GAT CCT GAA GAA ATG CAG AAA ATG CTC ATG GAC TCA CGG
U3 27 54
CGC ACA TAA ACA AGT GAC AGA TGA AAA ACA GCT GAA TAT GAG TCA GAG TTA AAT
108
GCT AGG AGC TGC TTA ACC GCA AAA CCA CAT CCT ATG TAA AGC TGG CCG ATG AGG
162
TGT ATC TTG CTC CAT TCT AAG AGT ATA TAA CCA GTC TTT AAA GCT TCC AGG
216
AGT CTC TCT GTT GAG GGC TTT CGA GTT CTC CCT TGA GGC TCC CAC AGA TAC ATT
K 243 270
AAA AAA TTG AGT TTT GTG ATT GAA CCC PGT CDT GTA PCT GTG TAA TTT CTC TTA
297 324
U3 351 378
CCG GCG ATT CCC TGG ACT CGG GCG CAG GAA CCT CGC AGT TGA LGR LGR LGR AGG
405 432
GAC TTG AAA AAC AGT GAT TAG GCA AGT GAA GCT AGA GCA ATA GAA AGC TGT CAA
459 486
GCA GAA CTC CTG CAG ACC TGG TGT GGG CAG TGG CAG AGC CTC CTG GCA GTG
513 540
AGT ATC TCT AGT GGA GCA GAC CTC AGC TCT GGA TTA AGT CAC TAT TCG TGG GCC
567 594
TAG ATA AAG ATT ATC TGG TGA CTC TCC GCG GAT COT CAA GGC AGG AGA TTC GTC
621 648
GGG GGA CAG CCC ACA NGG TAG GAG AGA TTC TAC AGC AAC ATG GGG ATY GGA CNG
675 702
Gly Ser Lys Ser Lys Arg Phe Glu Asp Leu Asn Val Asn Val Glu Val
729 756
GGG AGT AGG AAA AGA TTC GGA GAA AGC ATT AGA TGG GCC ATA AGG ATG
Gly Ser Lys Ser Lys Arg Phe Glu Asp Leu Asn Phe Arg Thr Ala Ile Arg Met
783 810
GCT ATT GTG ACT ACA GGA CGA GAA CCT GGT GAT ATA CCA GAG ACT TTA GAA TAC
Ala Asn Val Thr Thr Gly Arg Glu Pro Glu Asp Ile Pro Glu Thr Leu Glu Glu
831 854
TTA AGA TCA ATT ATT TGT GAT TTA CAA GAA AGA AGA GAA CAC TAT GGA TCT ACT
Ile Arg Ser Ile Ile Cys Asp Leu Glu Asp Arg Arg Glu His Tyr Glu Ser Ser
918 945
AAC GAA ATT CAT ATG GCA ATT ACC ACT TTA AAA GGT TTT GCA CTG GCA GGA ATT
Lys Glu Ile Asp Met Val Ile Thr Thr Leu Lys Val Phe Ala Val Ala Glu Ile
972 1026
CTA ATT ATG ACT GTC TCT ACT GCC ACA GCF GAA ATT ATG TAT GCT CAG ATG
Leu Asn Met The Val Ser The Ala Ala Glu Asn Met Tyr Ala Glu Met
GGA TTA GAC ACC AGA CCA TCT GAA AAA GAA GAA GAA GAA CCT
Gly Leu Asp Thr Arg Pro Ser Val Lys Glu Ser Val Lys Glu Glu Pro

第 / 図 (Yn3)

第 / 図 (Yn2)

Pro Gly His Leu Ala Ala Alan Cys Trp Glu Gly Arg Lys Thr Ser Gly Asn
Glu Alan Leu Gly Lys Arg
Phe

GAT AAC GTC GGG CGA GCT GCA GGC CCA GTC AAC CAN GTG CGC GAA ATA GTC CCA
Glu Lys Val Gly Arg Ala Ala Alan Cys Val Glu Ala Glu Ile Val Pro
Glu Gly Gly Ala Ser Cys Ser Pro Ser Lys Pro Ser Ala Alan Ser Thr Ile
1917 1914 1107 1134

TCT GCA CCT CCA ATG GAG GAG AAA CTA GAT TTA TAA ACT ATA ATA CAA TAG
Ser Ala Pro Phe Met Glu Lys Ile Leu Asp Leu
Cys Thr Ser Alan Gly Gly Ile Alan Tyr Alan The Ile Gly
2017 1998 1161 1188

GTA CTA CAA CAA CCT TGG AAA GAA GAC CTC AAA TAC AAC TTT TGG TCC
The Thr Thr Leu Glu Arg Pro Glu Ile Glu Ile Phe Val Alan Gly
2025 2052 1215 1242

ACC CTA TAA ATT TTT TAG ATA CGG GAG ATA TAA CAA CCT TTT TAA ATA GAA
Pro Ile Lys Phe Leu Leu Asp Thr Gly Alan Asp Ile Thr Ile Leu Alan Arg Ile
2039 2106 1323 1350

AGG ATT TCC AAA TAG GAA ATT CTA TAA ATT TAC AAC TCA ATT TGG AAA ATT
Asp Phe Glu Ile Gly Asn Ser Ile Glu Alan Gly Lys Glu Alan Met Ile Gly Val
2111 2113 1377 1404

TAG GAG GAG GAA GAG GMA CTA TAA ATT TAC AAC TCA ATT TGG AAA ATT
Asp Phe Glu Ile Gly The Alan Tyr Ile Alan Val His Leu Glu Ile Arg Asp
2187 2160 1421 1458

ATG AAA ATT ATA CGA TCC ATT GAA ATT AAC ATA TGA ATT TGG TCC ATT
Glu Alan ATT ATA CGA TCC ATT GAA ATT TGG TCA ATT GAA ATT AAC ATA TGA ATT
Glu Alan Tyr Arg Met Glu Cys Ile Phe Glu Alan Val Cys Val Leu Glu Alan Asp
2241 2264 1512 1545

ATT CCT TAA TCC AAC CAT ATT TAG GAA GAG ATA ACA TGA ATT ACT ATT ATA TAA,
Ser Leu Ile Glu Pro Leu Leu Glu Arg Asp Alan Met Ile Lys Phe Alan Ile Arg
2295 2322 1566 1593

GAT TGG TAA TCG CTC AAA ATT CTC AAC TAG TAA ATT TGG TCA ATT GAA ATT
Leu Val Met Ala Glu Ile Ser Glu Ile Pro Ile Val Lys Val Arg Met Lys
2403 2410 1620 1647

AGG ACC CTC CTC AAC AGG TAA AAC AGT GGC CAT ATT CTA ATT TGG TCA ATT
Asp Pro Thr Glu Gly Pro Glu Val Lys Glu Trp Pro Leu Ser Alan Glu Ile
2484 2484 1647 1674

TTC AAC CTC ATT TAA CAG TAG ATT CAG AAC GAG GAA ATT TAA ATT TGG TCC
Glu Ala Leu Thr Asp Ile Val Glu Arg Leu Glu Ser Glu Gly Lys Val Ile Arg
2511 2538 1701 1728

GCG CTG ACC CGA ATA ATC CTC GGA ATA CCC CTC ATT TGG CTA ATT TGA AGA AGA
Ala Asp Pro Alan Pro Phe Trp Alan Thr pro Val Phe Alan Ile Lys Lys Ser
2563 2592 1809 1836

GTG GTC ATT GCA GGA TGG TCA TAG ATT TTA CGG TCC TAA ATA ATT TAA CAG ACA
Gly Lys Trp Arg Met Leu Ile Asp Phe Arg Val Leu Alan Lys Leu Thr Asp Lys
2619 2646 1863 1890

HAG GAG CAG TCC AGT TAG GAC TCC ATT CTC ATT CTC GAT TAC AAA TGA AAA
Gly Ala Glu Val Glu Leu Glu Pro His Pro Ala Glu Leu Glu Alan Met Lys Lys
2700 2700 1863 1890

第 / 四 (404)

第 / 四 (404)

Gln Val Thr Val Leu Asp Ile Gly Asp Ala Tyr Phe Thr Ile Pro Leu Asp Pro
 3611 AGG CCC CAC CTC AGC TAG ATT TAA ATG CAG CCT TAA GTC TAA AAA GCG 2727
 Ala Pro Pro Pro Glu Val Glu Phe Ile His Ala Ala Leu Ser Ile Lys Arg Ala
 ASP TYR Ala Pro Tyr Thr Ala Phe Thr Leu Pro Arg Lys Asn Asn Ala Glu Pro 2754
 3615 CTC TAA GCA TGA TAC AGC ATG CCC CTA TAA TAG GAG CAG AAA CAT GCT ATT 2768
 Leu Ser Met Thr Glu Asp Ala Pro Ile Glu Ile Glu Thr TriP Tyr Ile Asp
 ATG GCA GTC GAA AAC AGC GAA AGC CAG CCT ATT GCA CAA ATA CAG 3726
 GLY Ser Arg Lys Glu Glu Iys Ala Ala Arg Ala Asp Ile Tyr TriP Thr Asn CAG
 GCA AAC AGC AGA TAA TAG AGC GAA GTC ATA AAA AGC CAG AGG TAC 3753
 Lys TriP Glu Ile Met Glu Ile Glu Glu Ser Asn Glu Lys Ala Val Glu Ala
 CTT TAT TAT TGG CCT TAA TAG CAG AGG AAA TGA ATA TCA TAA CAG ATT 3807
 Leu Leu Leu Leu Lys Ala Glu Ser Glu Glu Met Asn Ile Ile Thr Asp Ser
 CAC AAC ATT TTT TGA ATA TAC TCA ACC AAC CAG ATT TGA TGG AGC GAC TAT 3861
 Gin Tyr Ile Leu Asn Ile Leu Asn Pro Asp Leu Met Glu Glu Leu Ile Asp TriP
 GCC AAC AGG TCT TAG AGC AAC 3842
 Gln Glu Val Leu Glu Gln Met Glu Lys Lys Ile Ala Ile Phe Ile Asp TriP Val
 TTC CGG CCC ATA TAC AGC AAC 3896
 Pro Glu His Lys Glu Ile Pro Glu Asp Lys Leu Cys Glu Thr
 CAA TGA TCA TTA TAG AAC GCG AGG GAA TAG ATT TCA TAC AAC ATT AAC 4023
 Met Met Ile Glu Glu Glu Ile Leu Glu Lys Arg Ser Glu Asp Ala Glu
 GAT ATG TAT TAG CTG CAG AAC CAG AAC ATT TCT TGC CTG GAG AGG TAA 404
 Tyr Asp Leu Leu Ala Ala Glu Glu Thr His Phe Leu Pro Glu Val Arg
 GAA TAG TAC CAA CAA AAC CAA GAA TAA TCC TCA AAC AAC AAC ACT GGC GAC TAA 4131
 Ile Val Pro Thr Lys Ile Met Leu Glu Lys Arg Ser Glu Asp Ala Glu
 TAA TCC GAA AAC GGT CAA TAG GAA GTC AAC TAG GAG GAG TAA 4158
 Met Glu Lys Ser Ser Ile Glu Ser Lys Glu Val Asp Val Leu Glu Glu Val Ile
 TAG ATG AGG GAT ATA GAG GCG AAC ATT TAA TCA ATT TAA TCA ATT TAA 4239
 Asp Glu Gly Tyr Arg Glu Leu Glu Val Ile Met Ile Asn Leu Thr Ile Lys
 ATT CAA TAA CTA TAT TAC AAA AGC AAC AAC AAC TAC CAC AAC ATT TGA TAA TAT TGC CTT 4212
 Ser Ile Thr Ile Leu Glu Lys Glu Ile Ala Glu Leu Ile Leu Pro Cys
 GTC AAC AAG GCC TAC AAC AGC AAC AAC AAC TAC AAA TGA ATT CAG AAA 4314
 Asp His Glu Glu Leu Glu Glu Ile Glu Glu Ile Glu Met Asn Ser Glu Arg Glu Glu
 AAA AGC GAT TCG GAT CAG CAG GAG TTT TTT CAT CAT GCG TAG ATA GAA TIG ANG 4428
 Lys Glu Phe Glu Ser Ala Glu Val Phe Ser Ser TriP Val Asp Arg Ile Glu Glu

特開平 4-126085 (28)

3611 CGG ATT ATG CTC CCT ATA CTG CCT TAA CAT TAC CTA GCA AAA ATG ATG CAG GCG
 ASP TYR Ala Pro Tyr Thr Ala Phe Thr Leu Pro Arg Lys Asn Asn Ala Glu Pro 2754
 3615 CAG GCA GAA GAT ATG TAT GCT GCA GTC AGC GGT GCG TTT TAA GTC CAT 2768
 GLY Ile Arg Lys Glu Ile
 TAA TAT ATC AGA GTC CCT TAA AGA ATG TAC ACC CAT TAA GCA ATT TAT TAA 2808
 Ile Lys Glu Ser Thr Leu Asn Asn Ile Leu Glu Pro Phe Ile Glu TriP Val Leu Ser Pro Leu
 3619 CTC AGT TAG ATA TTT ACC RAT ATA TGG ATG ATA TAT ATA TAG GAT CAA ATT TAA 2835
 Glu Leu Asp Ile Tyr Glu Tyr Met Asp Ile Tyr Ile Glu Ser Asn Leu Asn
 3623 CAA AAA AGC AAC ATA AAC 2916
 Ily9 Lys Glu His Lys Glu Ile Glu Val Glu Glu Leu Arg Lys Leu Leu Leu TriP Val
 3626 CTC AGT TAG ATA TTT ACC RAT ATA TGG ATG ATA TAT ATA TAG GAT CAA ATT TAA 2989
 Glu Leu Asp Ile Tyr Glu Tyr Met Asp Ile Tyr Ile Glu Ser Asn Leu Asn
 3634 CTT TAT TAT TGG CCT TAA TAG CAG AGG AAA TGA ATA TCA TAA CAG ATT 2910
 Leu Leu Leu Leu Lys Ala Glu Ser Glu Glu Met Asn Ile Ile Thr Asp Ser
 3661 CAC AAC ATT TTT TGA ATA TAC TCA ACC AAC CAG ATT TGA TGG AGC GAC TAT 2943
 Gin Tyr Ile Leu Asn Ile Leu Asn Pro Asp Leu Met Glu Glu Leu Ile Asp TriP Met
 3691 TGG GCT ATG ATG ATG TAC TAC TAA CTT GCA ATT TAA CTT GCA ATT TAA CTT 3051
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 3708 CTC CAG AAA GAC CCA CAT TAA ATG AAC TAC AGA ATT TAG CAG GTC AAA TAA ACT 3078
 Pro Glu His Lys Glu Ile
 3733 CCG CTC GTC AGA CTA TCC CAG ACT TAA GTC TAA AAC TAA CTT GCA ATT TAA CTT 3116
 Ala Ser Glu Ile Ile Pro Asp Leu Ser Ile Lys Glu Leu Leu The Alan Met Met Arg
 3753 CTC CAG AAA GAC CCA CAT TAA ATG AAC TAC AGA ATT TAG CAG GTC AAA TAA ACT 3122
 Pro Glu His Lys Glu Ile
 3766 CCG CTC GTC AGA CTA TCC CAG ACT TAA GTC TAA AAC TAA CTT GCA ATT TAA CTT 3159
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 3784 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3184
 Ile Ser Glu Ile Ile Pro Asp Leu Ser Ile Lys Glu Leu Leu The Alan Met Met Arg
 3807 CTC CAG AAA GAC CCA CAT TAA ATG AAC TAC AGA ATT TAG CAG GTC AAA TAA ACT 3220
 Pro Glu His Lys Glu Ile
 3842 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3247
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 3861 CTC CAG AAA GAC CCA CAT TAA ATG AAC TAC AGA ATT TAG CAG GTC AAA TAA ACT 3267
 Pro Asn Arg Glu Leu Tyr Ala Lys Lys Ile Glu Leu Leu Ser Ile Val Glu Pro His Glu Ile Cys
 3896 CTC CAG AAA GAC CCA CAT TAA ATG AAC TAC AGA ATT TAG CAG GTC AAA TAA ACT 3275
 Pro Glu His Lys Glu Ile
 3923 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3302
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4023 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3321
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 404 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3348
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4071 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3367
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4077 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3383
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4131 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3402
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4158 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3420
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4185 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3436
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4212 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3456
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4239 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3472
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4266 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3479
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4314 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3493
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4337 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3501
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4353 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3518
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4368 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3537
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4377 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3554
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4393 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3564
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val
 4428 CAA TAA AAC CAA TAA AAC 3581
 GLY Phe Glu Thr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Pro Tyr Lys TriP Val

第 / 五 (一〇七)

第1圖(106)

4455	AGG CAG AGT TAA ATC ATG AAA ATT TTC ATT CAC ACC CAC ATT ATT TAA GGA GCA Ala Glu Ieu Asp Pro Gin Val Set Arg Arg Leu Phe Ala Val Leu Gin
4456	AGT TCA ATC CTA GAA TAG TAG CAG AAG AAA TAA GAA ATT GTC GCG CTC CCC TGT Pro Asn Leu Pro Arg Val Ile Val Glu Ile Lys Arg Lys Pro Leu Cys
5346	TGG GGA GTAA TAC AGT FTC ATA TCG AGT CTA CCT GAA ATG GAA CAG Iglg1 Gly Val Tyx Ser Asp Met Leu Tyr Ile Ser Ser Leu Pro Met Glu Glu
5347	TATA TTT AGA TTA AGA AAA GCT GAA GAA ATA AGG TGG AGC TTC CAT ACC AGA GAT Phe Arg Leu Arg Lys Ala Glu Gly Ile Arg Tep Ser Phe His Thr Arg Asp
5400	TGG CAA TAA AGG CTC ATT TCC GAA MAG GAA ACA GGA TCC Asp Lys Cys Iglg1 Lys Arg Ser Phe Lys Arg Leu Ser Glu Thr Gly Phe
5434	TATA TTT AGA TTA AGA AAA GCT GAA GAA ATA AGG TGG AGC TTC CAT ACC AGA GAT Phe Arg Leu Arg Lys Ala Glu Gly Ile Arg Tep Ser Phe His Thr Arg Asp
5508	TAT TAT ATT GGA TAT GAA AGA GCA GTC AGC TCT AAC CA GAT AGT Tyr Tyr Ile Gly Val Arg Val Met Val Ala Gly Ser Ser Leu Pro Asp Ser
5481	TGG CAA TAA AGG CTC ATT TCC GAA MAG GAA ACA GGA TCC Asp Lys Cys Iglg1 Lys Arg Ser Phe Lys Arg Leu Ser Glu Thr Gly Phe
5427	TATA TTT AGA TTA AGA AAA GCT GAA GAA ATA AGG TGG AGC TTC CAT ACC AGA GAT Phe Arg Leu Arg Lys Ala Glu Gly Ile Arg Tep Ser Phe His Thr Arg Asp
5535	TGG CAA TAA AGG CTC ATT TCC GAA MAG GAA ACA GGA TCC Asp Lys Cys Iglg1 Lys Arg Ser Phe Lys Arg Leu Ser Glu Thr Gly Phe
5562	TGG CAA TAA AGG CTC ATT TCC GAA MAG GAA ACA GGA TCC Asp Lys Cys Iglg1 Lys Arg Ser Phe Lys Arg Leu Ser Glu Thr Gly Phe
5616	TGG CTC CGG AGC ATT TTT GAA ATT GTC ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5689	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5690	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5691	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5692	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5693	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5694	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5695	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5696	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5697	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5710	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5711	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5712	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5713	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5714	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5715	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5716	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5803	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5813	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5814	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5815	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5816	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5817	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5818	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5819	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5820	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5821	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5822	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5823	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5824	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5825	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5826	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5827	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5828	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro
5829	TGG CAA TAA AGC ATT CCA ATT TGG TCG ATT CAA TCA TAC CGT CCT Iglg1 Leu Thr Asn Phe Asn Thr Glu Tep His Gin Ser Tyr Arg Pro

第一回 (四〇九)

第一回(四〇八)

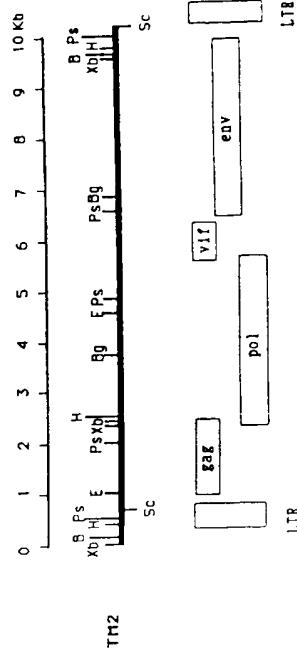
特開平4-126085 (30)

第 / 図 (40/10)

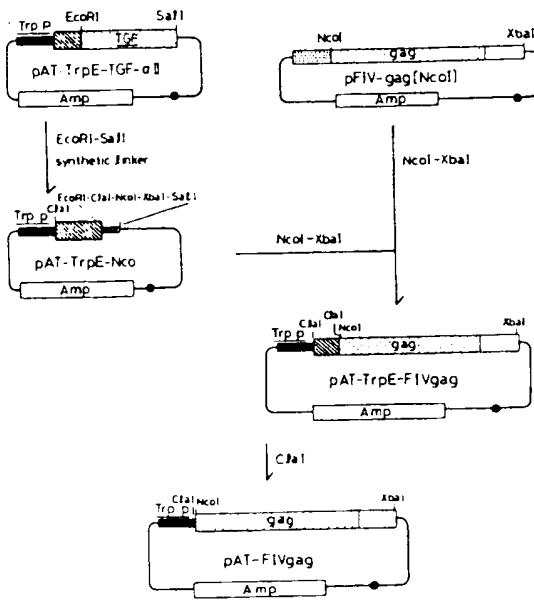
Leu Glu Ile Glu Leu Glu Leu Leu Ile Cys Leu Pro Thr Leu Val
 Asp Cys Ile Arg Asn Cys Thr Asn Lys Ile Leu Glu Tyr Thr Val Ile Ala Met
8721 AGA TTG TAT AAC AAA CTG TAC GAA TAA NAT ACT CGG ATA TAC AGT TAT TGC NAT
 Arg Gin Cys Ile Arg Asn Cys Thr Asn Lys Ile Leu Glu Tyr Thr Val Ile Ala Met
8748 GCC TGA MAT AGA TGA TCA VCA AGT AGC CCT AGC AGT CGA ATT GNG GNG AAA TGG
 Pro Glu Ile Asp Asp Glu Glu His Leu Ser Val Glu Leu Arg Arg Asn Glu
 Met Ala
8829 CAG GCA ATG TGG CAT ATC TGA AAA GCA AGT ATG MNG AMG CAT CTC CGG ACT
 Arg Gin Cys Ile Ser Glu Lys Glu Glu Glu
8830 Gly Asn Val Ala Tyr Leu Lys Ile Arg Arg Asn Asp Glu Ala Ser Pro Asp Cys
8833 GTA AAA TAC ACC AGA AGA GAT QCT GAG CTG ATT PCT TCC CTT TGA GCA GCA ATT GTC
 Lys Ile Glu Glu Arg Cys
8837 ATA TGA ATC CAT TCC AAA TCA AAA CAT TAA NAT CTC NAT TGC ATT GCA AAC
 Met Asn Pro Phe Glu Ile Lys Ile Ser Val Leu Glu Lys Arg
8844 GCA AGC AAC GAA GAA GGA AGA AGC CCT TCA AAC ATA TGA TCG CAA
 Lys Ile Glu Glu Arg Cys
8911 ATC TGA ATC CAT TCC AAA TCA AAA CAT TAA NAT CTC NAT TGC ATT GCA AAC
 Met Asn Pro Phe Glu Ile Lys Ile Ser Val Leu Glu Lys Arg
8918 GTA AGA AAC GAA GAA GGA AGA AGC CCT TCA AAC ATA TGA TCG CAA
 Lys Ile Glu Glu Arg Cys
9012 ATC TAC AGA ACC GCT TTA AGA TCC TGT GCA CAC CGT CAA CCA CAG ACC AAA
 Leu Glu Asn Arg Phe Lys Met Leu Phe Glu Thr Pro Ser Thr The Asp Glu Thr
9015 CAG AGG AAA AAC CAT CTG CAA AAC AAA GGG TGG ACT GGG MAG ATT ATT GGC
 Glu Glu Lys Thr Ser Ala Lys Ile Arg Val Asp TriP Glu Asp Tyr TriP Asp
9133 ATC CTC AAC AAC TAG AGA AAA TCC TGA TGA ACT AGA AGC GCA CAT AAA CAA GTC
 Pro Glu Glu Ile Glu Lys Met Leu Met Asp
9207 ACA GAA GAA AAC CAG CTC AAC AGT CAG AGT TAA AGG CTA GCA GCT GCT TAA
9261 CCG CAA AAC AAC CTC ATC CTA TGT AAA GCT TGC CGA TGA CGT GFA TGT TGC ATT
9315 GTA AGA GAA TAA TAC CAG TGT TTT TAA MAG CTT CGA CG
7857 AGA ACC TGT CGA ATT GAA TAA TAT TGC TGG AAA TGG GTC TGC TAC ATC GAA ATT
 Lys Ala Val Glu Leu Tyr Asn Ile Ala Glu Asp Ser Cys Thr Ser Asp Leu
7911 ACC AAA AGG ATG GCG ATA TAT GAA CTG TAA TIG TAC AAA TGG GAC TGA TAA TAG
 Pro Lys Ile TriP Glu Tyr Met Asn Cys Asn Cys Thr Asn Glu Thr Asp Asn Ser
8749 TGA AAC AAA ATT GGC ATG CCC TAA GCA GCG TAT TTT MNG AAA TGG GTC CAA
 Glu Thr Lys Met Ala Cys Pro Iys Asn Glu Glu Ile Leu Arg Asn TriP Tyr Asn
8802 CCC AGT CGC AGG GTT ATT AGC GGC GTT ATT AAA ATA TCA AGT AGT AAA AGC AGC
 Pro Val Ile Glu Leu Arg Glu Ala Leu Ile Lys Tyr Glu Val Val Lys Glu Pro Ile
8856 AGA GCA ATT GAT AGT GGC GCA AGA ATT TGT CGCA TAA ATT CAA TCA NOT ATT GGC
 Glu Tyr Ile Ile Val Pro Glu Val Met Glu Tyr Lys Phe Lys Glu Lys Arg
8857 AGC AGC ATT TCA TAT TAT TAT GCT AGC TCT TGC GAC AGT GTT ATT GTC TGG AGC
 Ala Ala Ile His Ile Met Leu Ala Leu Ala Thr Val Leu Ser Met Ala Glu Ala
8858 AGG AAC CGG TGC CAC TGC TCC ATT TGC ATT GOT GAC TCA ATA TCA NOT ATT GGC
 Glu Thr Gly Ala Thr Ala Ile Glu Met Val Thr Glu Tyr His Glu Val Leu Ala
8864 TAC TCA TCA AGC ATT GCA AGA AAA AAC TGA GGC ACT GCA ATT AAA ATT ATT
 The His Glu Glu Glu Lys Ile The Glu Ala Leu Lys Ile Asn Asn Leu
8865 AGG GCT ATT TAC CTC AGA CCA AGT ATT AGT GAT AGG ATT AAG AGT AGT AGA GGC
 Arg Leu Ile Thr Leu Glu His Ile Val Val Val Ile Glu Leu Arg Val Glu Ala
8916 TAT AGA ATT CTC ATA TAC AGC ATT TGT CGA AGA ATT AGG ATG CAA TCA
 Ile Glu Ile Phe Leu Tyr Thr Ala Phe Ala Met Glu Glu Leu Glu Cys Asn Glu
8922 AAA TCA ATT CTC TGT TAA ATT TCC TCC CAG CCTT ATG GAC TAT GTC TAA CAT GNC
 Asn Glu Phe Cys Lys Ile Pro Pro Ser Leu TriP Ser Met Tyr Asn Met Thr
8923 TTT GAA TCA AAC ATT CTG GAA TCA TGG AAA ATT CTC ATT GGG GAA TIG GTC TAA
 Leu Asn Glu Thr Ile TriP Asn His Glu Asn Ile Ser Leu Glu Asn TriP Tyr Asn
8924 TCA AAC AGC AGA ATT TGT CGA AAA ATT ATT TCA GAT ATT NAT GGA ATT AGA AGC
 Glu Thr Arg Asp Leu Glu Ile Phe Tyr Glu Ile Ile Met Asp Ile Glu Glu
8931 AAA TAA TGT TCA AAC ATT ACN GAA ATT ACN GAA ATT ACN GAA ATT ACN GAA ATT
 Asn Asn Val Glu Glu Lys Ile Phe Glu Ile Glu Glu Leu Glu Ile Glu Asn TriP
8932 GOT GCG ATG GAT AGG CAA ATT CCC TCA ATA ATT AAA AGG ACT TCT TGG TAG TGT
 Val Glu TriP Ile Glu Lys Ile Pro Glu Tyr Leu Lys Glu Leu Glu Ser Val
8934 GTT GCG MAT AGG TGT AGG ATT CCT ACT CCT ACT ATT ATT CCTT GCC TAC ATT ACT
8935

図面の作成(内容に変更なし)

第2図

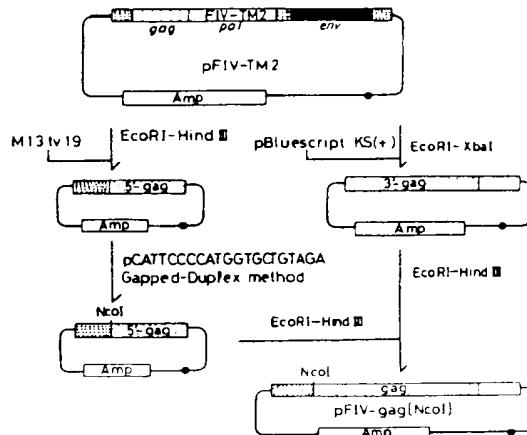


第4図



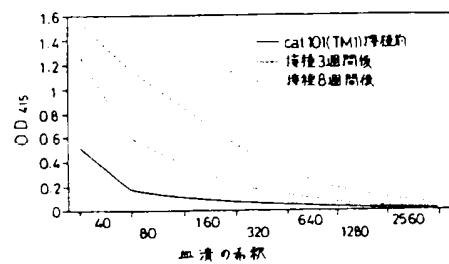
図面の作成(内容に変更なし)

第3図

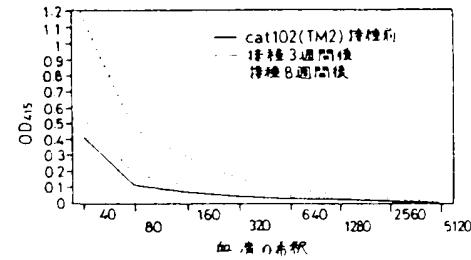


第5図

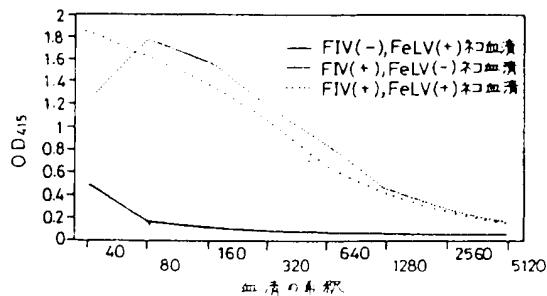
(A)



(B)



第 6 図



第 1 頁の続き

⑤Int. Cl.⁵

C 12 N 1/21
C 12 P 21/02
G 01 N 33/569
// A 61 K 39/21
(C 12 P 21/02
C 12 R 1:19)
A 61 K 37/02

識別記号

15/70
C 8214-4B
H 9015-2J
8829-4C
8317-4C

府内整理番号

⑥発明者 斎藤 美保 埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡 1-3-1 東燃株式会社総合研究所内
⑦発明者 伊達 朋子 埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡 1-3-1 東燃株式会社総合研究所内

特開平4-126085(34)

手続補正書(方式)

平成2年11月19日

特許庁長官 植松 敏昭



1. 事件の表示 平成2年特許第206218号

2. 発明の名義 ネコ免疫不全ウイルスの遺伝子RNAに
相補性を示すDNA

3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人

名 称 東芝株式会社

4. 代 理 人 東京都新宿区新宿1丁目1番14号 山田ビル
(郵便番号 160) 電話 (03) 354-8623
(6200) 弁理士 川口義雄
(ほか4名)

5. 補正指令の日付 平成2年10月30日

6. 補正により増加する請求項の数 なし

7. 補正の対象 明細書及び図面

8. 補正の内容

(1) 明細書中、鮮明に抄写した第1頁～第16頁を別紙の通り補充する。
(内容に変更なし)
(2) 図面中、十分に濃厚な黒色で鮮明に描いた(過渡者と図面)第2
図及び第3図を別紙の通り補充する。
(内容に変更なし)

方 式
な ど

